58/V89

I. VOICA DANIELA ANCA LAZĂR

PROCESE FIZIOLOGICE ÎN REPRODUCEREA SEXUATĂ A PLANTELOR

EDITURA UNIVERSITĂȚII DIN BUCUREȘTI
1999

BIBLIOTECA CENTRALĂ
UNIVERSITARĂ
București
Cota III 516 384
Inventar C19990384 9

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CONSTANTIN VOICA DANIELA ANCA LAZĂR

PROCESE FIZIOLOGICE ÎN REPRODUCEREA SEXUATĂ A PLANTELOR

(Lucrări practice)

EDITURA UNIVERSITĂȚII DIN BUCUREȘTI
1998

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Referenți științifici: Prof. dr. MARIN ANDREI
Conf. dr. LUCIA POLESCU

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITARĂ
BUCUREȘTI
COTA IV 516384

456/99

B.C.U. Bucureşti
C199903849

© Editura Universității din București
Șos. Panduri, 90-92, București - 76235; Telefon/Fax 410.23.84

ISBN - 973 - 575 - 299 - 9

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CUPRINS

Prefaţă 4
Introducere 5
Evidenţierea rolului luminii asupra dezvoltării plantelor 22
Influenţa luminii asupra dezvoltării plantulelor 24
Influenţa luminii asupra alungirii mezocotilului plantulelor de cereale 26
Stabilirea reacţiei la lumină la soiul de grâu Lutescens 62. 28
Rolul luminii şi al regulatorilor de creştere în germinaţia seminţelor de salată 30
Evidenţierea rolului temperaturii asupra dezvoltării plantelor ... 33
Vernalizarea grâului de toamnă 35
Punerea în evidenţă a hormonilor traumatici prin testul *Phaseolus* (după Wehnelt) 38
Determinarea concentraţiei auxinei prin testul *Avena* 40
Determinarea concentraţiei auxinei prin testul *Pisum* 51
Efectele fitocromului asupra mişcărilor nocturne de închidere a foliolelor secundare de la frunzele de *Albizzia julibrissin* 54
Rolul fitocromului în germinaţia seminţelor sensibile la lumină . . 62
Bibliografie 64

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

PREFAȚĂ

Cunoașterea proceselor fiziologice ale reproducerii sexuate a plantelor și însușirea noțiunilor teoretice specifice acesteia nu se poate realiza fără efectuarea unor lucrări practice de laborator, dat fiind caracterul experimental al acestui domeniu al biologiei.

În textul prezentat, în acest caiet de lucrări practice, sunt cuprinse lucrările care se efectuează de către grupul de studenți din anul V - Secția Biologie de la Facultatea de Biologie a Universității din București care frecventează Masterul de Embriologia plantelor.

Lucrările prezentate au fost selecționate ținându-se cont de necesitatea ilustrării unora dintre cunoștințele teoretice prin experiențe de laborator accesibile, de posibilitatea de a efectua lucrările cu un grup mai larg de studenți cu activități frontale, care să permită realizarea unui experiment în mai multe ședințe separate între ele, precum și de nivelul de dotare al laboratorului nostru.

Lucrările incluse corespund programei analitice a cursului și lucrărilor practice și nu repetă nici una dintre experiențele efectuate la celelalte discipline de Fiziologia plantelor sau la alte discipline botanice.

Eventualele observații și sugestii în vederea îmbunătățirii lucrărilor practice prezentate vor fi primite și luate în considerație de autori cu multă recunoștință.

AUTORII

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

INTRODUCERE

Spre deosebire de creştere, care reprezintă mărirea ireversibilă a volumului corpului plantelor, dezvoltarea reprezintă ansamblul transformărilor calitative care au loc în corpul plantelor, în celulele meristematice ale vârfurilor vegetative, pe tot parcursul ciclului lor de viaţă. Aceste transformări se concretizează, în majoritatea cazurilor, printr-o serie de procese morfologice. Astfel, datorită acestor schimbări calitative, planta se dezvoltă, producând flori şi seminţe.

Ciclul de dezvoltare al plantelor cuprinde formarea şi creşterea organelor vegetative, urmată de procesul reproducerii şi apoi de îmbătrânirea şi moartea plantei.

La plantele superioare, durata ciclului de dezvoltare variază în limite foarte largi. Pe baza acestui criteriu plantele au fost încadrate în următoarele grupe:

a) Plante care fructifică o singură dată în cursul vieţii lor. Din acest grup fac parte:
   1. Plantele efemere, care îşi termină ciclul vital într-un timp foarte scurt, de 5-6 săptămâni.
   2. Plantele anuale, care îşi încheie ciclul vital în cursul unei singure perioade de vegetaţie.
   3. Plantele bienale, la care în primul an are loc formarea organelor vegetative, iar formarea florilor şi fructelor în cel de al doilea an, după care plantele mor.
   4. Plantele plurienale, care cresc mai mulţi ani, după care înfloresc şi fructifică.

b) Plante care fructifică de mai multe ori în cursul ciclului lor vital. La ele creşterea organelor vegetative este reluată în fiecare an. Din această categorie fac parte plantele ierboase perene, arborii şi arbuştii.

Înflorirea este un fenomen natural pentru plantele superioare, ea încheind ciclul lor biologic şi permiţându-le să formeze fructe şi seminţe.

Formarea unei flori reprezintă apariţia unei calităţi noi, ceea ce înseamnă că în viaţa plantei s-a trecut la o etapă nouă originală. La înflorire are loc transformarea unui meristem vegetativ al tulpinii într-un meristem floral. Rareori se produce o trecere gradată de la faza vegetativă la cea reproductivă.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Acompaniind modificările meristemului apical se pot observa schimbări în procesele fiziologice, schimbări specifice asociate cu inducţia primordiilor florale. Întradevăr se pot face referiri separate la fiziologia inducţiei florale, dezvoltarea florii, fecundaţie, formarea fructului, dezvoltarea fructului şi dezvoltarea seminţei.

Fiecare din aceste faze are modificări interne distincte şi adesea externe. Importanţa reproducerii plantelor a fost pentru prima dată enunţată cu claritate de către Klebs (1918).

Astfel înflorirea poate fi separată în:

1) iniţierea schimbărilor în apex, ducând de la producerea de primordii foliare la primordii florale;

2) diferenţierea elementelor florii;

3) creşterea şi maturarea tuturor elementelor florii;

4) înflorirea.

Julius Sachs (1888) a fost primul care a realizat experienţe asupra dezvoltării florilor. Rezultatele cercetărilor sale l-a făcut să emită ipoteza existenţei unor substanţe ce determină înflorirea, care se sintetizează în frunze şi sunt conduse la mugurii axilari, inducând formarea florilor.

Ca rezultat al observaţiilor sale asupra creşterii plantelor de la seminţe până la maturitate, Klebs (1913) a introdus conceptul de "maturitate de înflorire". Această fază reprezintă balanţa fiziologică şi biochimică la care plantele pot înflori după o expunere la stimulii favorabili ai mediului înconjurător. Această fază poate să coincidă sau nu cu sfârşitul fazei juvenile.

Supunerea plantelor la temperaturi scăzute, propice vernalizării, ilustrează acest punct de vedere.

Fiecare plantă trebuie să parcurgă câteva săptămâni de creştere, înainte ca faza juvenilă să fie depăşită, iar plantele să devină sensibile la temperaturile scăzute. În timpul perioadei de vernalizare nu are loc iniţierea formării florilor, dar planta este acum gata să înflorească şi o va face atunci când temperatura necesară şi/sau fotoperioada sunt realizate.

Într-un alt laborator german H. Fischer (1905, 1916) a urmărit efectul nutriţiei minerale, în special al concentraţiei de N, intensitatea luminii şi CO_2 asupra înfloririi. În

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

anul 1905 el a sugerat faptul că cea mai importantă combinaţie a factorilor era raportul C/N. Observaţiile lui l-au făcut să tragă concluzia că atunci când fotosinteza era preponderentă azotului, avea loc înflorirea, iar atunci când N era preponderent carbohidraţilor (produşi în fotosinteză) înflorirea nu avea loc.

Iniţierea floral poate fi privită în următoarle două moduri: unul este acela că este o tendinţă de bază de a produce flori după o oarecare perioadă juvenilă, iar că nereuşita producerii lor este rezultatul acţiunii unor inhibitori produşi de frunze.

Plantele înfloresc dacă inhibitorul sau inhibitorii sunt izolaţi sau neutralizaţi.

O presupunere alternativă este aceea că planta rămâne vegetativă până când factorii ce promovează înflorirea sunt produşi şi transportaţi de la frunze la apexul în creştere, urmând sincronizarea componentelor mediului înconjurător.

Referitor la felul cum este privit fenomenul iniţierii florale, este clar că atunci când o plantă trece de la faza vegetativă la cea reproductivă trebuie ca mai întâi unele gene latente să fie activate într-un mare număr de celule din arii localizate în apexul lăstarului.

În prezent giberelinele reprezintă singurul grup dintre substanţele chimice cunoscute care determină înflorirea la un mare număr de plante. Totuşi efectele sunt restrânse aproape în întregime la plantele de zi lungă şi plantele bienale cu creştere în rozetă în zile scurte, iar înflorirea este semnalată de alungirea tulpinii (Vince - Prue, 1975).

Giberelinele figurează de asemenea în unele exemple spectaculoase de scurtare a fazei juvenile la arbori, mai ales la specii de *Cupresaceae* şi *Taxodiaceae* (Pharis şi Kuo, 1977).

S-a evidenţiat faptul că la plantele în rozetă, în procesul de înflorire sunt implicate două gibereline, una fiind responsabilă de alungirea tulpinii, iar cea de a doua influenţând înflorirea (Stoddart - 1962).

După mai mult de 25 de ani de experimentări cu gibereline, este clar acum că ele joacă numai parţial un rol în controlul înfloririi plantelor. Ele nu sunt sinonime cu "florigenul".

Concluzia la care s-a ajuns este aceea că giberelinele determină iniţierea floral în mod indirect prin producerea altor factori ce promovează înflorirea.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Începând din 1967, pentru studiul biochimiei inițierii florale a început să fie utilizată în acest scop tehnica culturilor de țesuturi. Nitsch și colaboratorii au fost încununați de succes în inducerea înfloririi "in vitro" la specii fotoperiodice.

Odată ce au fost recepționate suficiente semnale pentru inițierea florală de către celulele receptive ale meristemelor tulpinii, sunt reprogamate aparate genetice pentru producerea structurilor florale.

Dacă mugurii primesc semnale de inițiere florală insuficiente, se va forma un amestec de frunze și părți ale florii.

La plantele fotoperiodice sensitive ce primesc mai mult de un ciclu fotoinductiv, inițierea filodiilor florale sau o inducție incompletă poate fi evitată prin mărirea numărului de fotoperioade administrate.

Dezvoltarea florii este aproape mereu oprită sau primordiile avortează când planta se află într-o lipsă acută de hidrați de carbon.

În zonele temperate plantele sunt expuse alternanțelor zilnice ale nivelelor relativ mari și mici ale hidraților de carbon și inevitabil acest ritm se reflectă în centrii morfogenetici. De regulă o proporție mare a asimilatelor zilnice este condusă la părțile tinere, în creștere ale plantei. Se poate presupune că hormonii plantei acompaniază asimilatele.

Exceptând cazul când există un surplus de hidrați de carbon, în mod inevitabil apare o concurență pentru hidrații de carbon între centrii de creștere (Williams - 1960), regiunile de depozitare și utilizarea lor în respirație.

Dezvoltarea florilor prezintă centre de creștere intensivă implicate în utilizarea hidraților de carbon și a azotului pentru producerea de noi celule.

În unele cazuri o balanță necorespunzătoare glucide/azot la fotoperioade lungi sau scurte poate limita numărul florilor prin durata fazei de polenizare a dezvoltării. El Hinnawy (1956) a semnalat relația dintre nutriția cu macroelemente și inițierea florii. El ajunge la concluzia că variații ale nivelelor în macroelemente pot influența puternic timpul de apariție a mugurilor florali, rata dezvoltării florilor, numărul de flori produse și raportul stamine/pistil; dar nu s-au semnalat perturbări în inițierea primordiilor florale la plantele sensitive fotoperiodice.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Referitor la lungimea zilei şi influenţa sa asupra dezvoltării florii, plantele ce primesc din abundenţă N au ceva mai multe fructe decât cele cu o aprovizionare scăzută de N. În acelaşi timp producţia de seminţe a fost mai mare la plantele aprovizionate abundent cu N şi în fotoperioade lungi. Aceasta se datoreşte unei înalte frecvenţe a partenocarpiei în fotoperioade scurte.

Dacă nu se administrează Fe la plantele la care Fe determină fotoinducţia, o parte dintre ele mor.

Nu se ştie încă dacă Fe este implicat în mod direct sau indirect, având în vedere prezenţa lui în citocromi, ferredoxină, reductază şi sulfit reductază, ca şi în câteva alte enzime esenţiale pentru funcţionarea celulelor.

În general, un nivel ridicat de N utilizabil promovează dezvoltarea elementelor femele ale florii în raport cu cele mascule, iar când aprovizionarea cu N este slabă se întâmplă invers.

Pistilul este ultimul dintre elementele florale ce se diferenţiază în timpul formării florii.

La unele specii dioice iniţierea pistilului este legată de prezenţa cromozomilor de sex (Westergaard - 1958). La unele specii, totuşi, expresia sexuală este mai degrabă subordonată modificărilor factorilor mediului înconjurător ce acţionează asupra proceselor metabolice.

Producerea de plante mascule este corelată cu aportul de gibereline (Galun - 1959).

Citochininele joacă şi ele un rol în sexualitate. Este sigur că la unele specii monocotiledonate citochininele reprezintă un factor al diferenţierii florilor perfecte. De altfel, experienţele realizate "in vitro" pe culturi de ţesuturi au confirmat că citochininele induc formarea etilenei (Fucus - 1968). Se poate spune că în producerea florilor sunt importante auxinele, giberelinele,citochininele, morfactinul şi etilena.

Factorii climatici de tipul îngheţ prelungit, perioade foarte umede sau foarte calde, uscăciune în timpul perioadei de polenizare, pot elimina formarea fructelor şi semințelor la cereale.

Azotul, dintre toate elementele, este un factor limitant al formării fructelor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

De asemenea deficienţa în apă blochează dezvoltarea fructelor.

În mod obişnuit creşterea fructelor este relativ rapidă. Mobilizarea nutrienţilor spre fructul în creştere este mult mai rapidă decât producerea lor prin fotosinteză. Cu toate că fructele diferă prin origine morfologică, din punct de vedere fiziologic pot fi definite (Nitsch - 1952) ca structuri ce înconjoară ovulele, dezvoltarea lor fiind corelată cu dezvoltarea ovulelor. Curbele de creştere pentru fructe sunt în mod obişnuit de două tipuri: sigmoide (fasole, mazăre, tomate); dublu sigmoide (piersică, prună, cireaşă).

Se consideră că diviziunea celulară în exocarpul moale încetează imediat după perioada timpurie de dezvoltare rapidă, în timp ce creşterea celulară este bifazică şi continuă şi în timpul coacerii.

Creşterea rapidă a celulelor pericarpului în primele trei săptămâni este urmată de o perioadă de două săptămâni de creştere nesemnificativă, pentru ca ultimele trei săptămâni să se caracterizeze printr-o creştere exprimată printr-o curbă sigmoidă. În această ultimă perioadă creşterea celulelor pericarpului este semnificativă, ajungându-se la un diameru de 25 de ori mai mare decât cel din faza timpurie de creştere. Creşterea rapidă a embrionului este însoţită de creşterea lentă sau blocarea creşterii pericarpului. Odată cu terminarea creşterii embrionului, creşterea pericarpului este reluată.

Fără polenizare creşterea ovarului este blocată. Se presupune că încetarea creşterii ovarului se datorează combinării unui aport insuficient de hormoni de creştere cu prezenţa în exces a inhibitorilor creşterii.

După polenizare şi fertilizare, majoritatea fructelor se dezvoltă pe baza aportului endogen de substanţe de creştere oferite de plante.

Odată cu utilizarea auxinelor sintetice şi testarea lor experimentală s-a constatat că acestea induc dezvoltarea partenocarpică a fructelor la numeroase specii.

Aceasta are loc în special la speciile cu un număr mare de ovule per ovar. Numai 20% din plantele horticole răspund la tratamentul cu auxine. Mai târziu, când au fost testate giberelinele, s-a constatat eficienţa lor asupra speciilor ce răspund la auxine şi în acelaşi timp şi asupra florilor cu ovare care conţin unul sau câteva ovule.

Se poate trage concluzia că auxinele sunt mai eficiente în inducerea partenocarpiei la fructele cu seminţe multiple în timp ce giberelinele sunt mai eficiente în cazul fructelor cu

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

seminţe puţine. Citochininele sunt active asupra smochinului şi strugurilor. Morfactinul creşte atât numărul, cât şi greutatea fructelor de tomate. La unele specii, cum ar fi murele cireşele, mărul, mango, dezvoltarea totală a fructelor este asigurată de o combinaţie de auxine, gibereline şi citochinine.

Este probabil ca acţiunea fitohormonilor să fie aceea de agenţi inductori ai formării depozitelor de metaboliţi, în timp ce alţi agenţi, de tipul acidului abscisic, stopează creşterea protoplasmatică.

Dezvoltarea seminţelor implică atât procese de creştere, cât şi de diferenţiere. Părţile din ovule care prezintă procentul cel mai ridicat de replicare al ADN, de activitate ARN şi activităţi metabolice asociate, sunt embrionii, endospermul şi integumentele. Este cunoscut faptul că endospermul reprezintă legătura dintre embrion şi mediu.

Lichidul endospermic este un factor esenţial în dezvoltarea embrionilor. Acest lichid conţine numeroşi compuşi cu azot, incluzând proteine, amide, aminoacizi liberi şi acizi nucleici. În unele cazuri, acestea pot fi utilizate direct; în alte cazuri ele sunt utilizate după o prealabilă degradare. În timp ce embrionii tineri se dezvoltă mai bine într-un mediu lichid, embrionii mai maturi se dezvoltă mai repede pe un substrat semisolid. Iniţierea primordiilor rădăcinii este facilitată de mediul lichid, în timp ce dezvoltarea primordiilor tulpinii este mai puţin dependentă de un mediu lichid. Direcţia de dezvoltare în sămânţă este de la un endosperm lichid la unul celular. Embrionii mai uşor de cultivat sunt cei care utilizează glucoza sau zaharoza ca unică sursă de C şi NO_3 ca sursă de N. Aparent, diferenţierea căilor biochimice apare foarte timpuriu la aceste specii.

Se pot trage următoarele concluzii generale: giberelinele sunt implicate atât în dezvoltarea seminţelor, cât şi a fructelor; la maturare are loc o sinteză conjugată de giberelină şi de derivaţi giberelinici - "forme de legare". Aceşti compuşi persistă şi în timpul germinării.

Nivelele de citochinină modifică de asemenea dezvoltarea seminţelor. Se poate sublinia faptul că citochininele sunt implicate în creşterea şi dezvoltarea embrionilor, fructelor şi seminţelor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Semințele sunt bogate nu numai în gibereline și citochinine, dar și în auxine. Singura generalizare despre sinteza auxinelor în semințe este că nivelul auxinei libere scade la valori foarte mici în timpul maturării semințelor (Bewely și Black, 1978). Este foarte posibil ca o fracție importantă a auxinei libere să fie convertită la forme legate și la esteri conjugați, S-acil-anhidride, acil-anhidride și amide conjugate.

În mod frecvent se consideră că oprirea creșterii embrionului în sămânță, precum și împiedicarea germinării precoce, sunt controlate de acidul abscisic. Prin îndepărtarea chirurgicală a unor părți din peretele ovarului, din învelișurile semințelor și din endosperm, s-a constatat că inhibitorii creșterii sunt prezenți în diferite țesuturi în funcție de specie. Au fost caracterizați mai mulți inhibitori, dar cel mai bine studiat este acidul abscisic. Sinteza acestuia, ca și a celorlalți hormoni vegetali, este specie-specifică.

Cele mai multe semințe sunt dorminde în timpul maturării fructelor. La foarte puținele specii la care acest aspect nu este valabil, germinarea apare în fruct - condiție cunoscută ca viviparitate. În acest caz, acesta este rezultatul blocării intrării embrionului în stadiul de repaus. Oprirea creșterii embrionului este rezultatul mai multor factori: acumularea inhibitorilor creșterii, reducerea aportului de apă, hrană și oxigen.

Starea dormindă poate dura de la câteva zile la câțiva ani. Este de dorit ca la cereale cauzele endogene ale stării dorminde să nu persiste mai mult decât peste timpul de recoltare. Odată ce conținutul în apă al seminței scade sub 15%, așa cum se întâmplă în timpul stocării, nu mai apare germinarea. În cazul semințelor de cereale este de dorit ca ele să germineze uniform în momentul în care sunt puse în condiții favorabile de apă, temperatură, oxigen și lumină. Este o condiție importantă, deoarece timpul de recoltare este corelat cu timpul de germinare. Ca urmare, cresc ătorii de plante selectează soiuri ce germinează uniform.

Lucrurile se petrec diferit în condițiile naturale de vegetație; germinarea neuniformă reprezentând un avantaj în selecția naturală. Această caracteristică crește șansa de supraviețuire într-un areal dat.

Au fost identificați o serie de inhibitori ai germinării, substanțe extrase din diferite organe ale plantei (rădăcină, tulpină, frunze, fructe și semințe). Mulți dintre acești compuși împiedică germinarea, fără a afecta ireversibil sămînța, și atunci când concentrația lor scade

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

prin secreție sau metabolizare, germinarea poate avea loc. În cazul fructelor cu multă apă (pepene și tomate), ca și la plantele din medii sărăturate, apare inhibiția osmotică. Aceasta poate fi eliminată prin plasarea semințelor într-un mediu apos, cu concentrații scăzute de zaharuri sau NaCl.

În mod natural, în timpul creșterii embrionului se pot acumula inhibitori de creștere. În asemenea cazuri, germinarea are loc numai după o substanțială îmbibare cu apă. Ca exemple foarte bune de inhibitori ai creșterii sunt: cianurile, dinitrofenolul, azidele, fluoridele și hidroxilamina. Acești compuși inhibă germinarea la aceleași concentrații la care inhibă și respirația. Totodată, o serie din aceste substanțe, la anumite concentrații, întrerup starea dormindă. Mai mult chiar, este interesant faptul că cianurile, în concentrații mici, sunt metabolizate activ de către semințe.

Citochinina determină ieșirea din starea dormindă și se asociază acțiunii acidului giberelinic în primele stadii ale germinării.

S-a stabilit, doar la nivel calitativ, importanța câtorva fitohormoni în diviziunea celulară și în diferențierea zigotului spre embrion și plantă adultă.

În studiul diferențierii celulare este esențial să se determine factorii ce controlează formarea și orientarea fusului de diviziune, precum și însăși diviziunea celulară.

Pentru parcurgerea ciclului lor vital, plantele manifestă, în funcție de particularitățile condițiilor de mediu la care s-au adaptat în cursul evoluției lor, o serie de cerințe față de prezența, valoarea de intensitate și durata de acțiune a anumitor factori ai mediului extern. Dintre aceste cerințe ale plantelor sunt mai bine cunoscute cerințele față de factorul temperatură și față de factorul lumină. Dacă acești factori nu se găsesc în mediu la valori de intensitate sau durate de acțiune conforme cu cerințele plantelor, dezvoltarea unora dintre ele este împiedicată sau frânată, fapt ce influențează posibilitățile lor de a-și încheia ciclul de viață.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Vernalizarea

Un mare număr de plante nu pot înflori decât în cazul când dispun de posibilitatea parcurgerii unui anumit număr de zile în cursul cărora temperatura este scăzută. Acţiunea temperaturilor joase poartă denumirea de iarovizare sau vernalizare.

Parcurgerea stadiului de vernalizare nu este însoţită de nici o schimbare de natură morfologică. Nu există criterii de distingere a plantelor vernalizate de cele nevernalizate.

În cazul plantelor vernalizate însuşirile dobândite de vârfurile de creştere sunt transmise tuturor celulelor rezultate în urma procesului de creştere a plantelor.

Starea vernalizată este reversibilă sau ireversibilă în funcţie de specie .

Atunci când vernalizarea este realizată, dar nevoia unei fotoperioade definite nu este satisfăcută planta nu înfloreşte.

Există două categorii de cereale: cereale de toamnă şi cereale de primăvară. Cerealele de primăvară înfloresc şi fructifică în acelaşi an dacă sunt semănate în cursul primăverii. Dacă se seamănă însă primăvara varietăţi de grâu şi secară de toamnă, ele rămân foarte mult timp în stadiul vegetativ şi înflorirea, respectiv fructificarea lor este foarte târzie şi slabă. Aceste varietăţi trebuie semănate toamna pentru ca ele să înflorească şi să fructifice normal. Ele suportă în cursul iernii influenţa temperaturilor scăzute şi în vara următoare înfloresc şi fructifică normal.

După cerinţele pe care le manifestă faţă de temperatură plantele se împart în trei grupe:

1. Plante cu vernalizare obligatorie. Din acest grup fac parte plantele bienale, care în primul an formează o rozetă de frunze, iar în al doilea an, după parcurgerea perioadei de frig, înfloresc şi fructifică. Este cazul varietăţii bienale de *Hyoscyamus niger*, care formează în primul an rozeta de frunze din centrul căreia în primăvara următoare se diferenţiază tulpina floriferă. Dacă plantele sunt sustrase acţiunii temperaturilor scăzute ele rămân în stadiul de rozetă timp nedefinit. În acest caz rozeta de frunze este sensibilă la temperaturi joase.
2. Plante care manifestă preferinţe faţă de parcurgerea unei perioade cu temperatură scăzută. Din acest grup face parte varietatea de secară Petkus, care dacă este

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

vernalizată înfloreşte în stadiul de 7 frunze, iar dacă nu este vernalizată începe să înflorească după ce şi-a format 25 de frunze.

3. Plante indiferente. Din acest grup fac parte toate plantele anuale, care, semănate primăvara, înfloresc în cursul aceluiaşi an, fără a avea nevoie de frig.

În cazul plantelor perene s-a crezut că ele nu ar avea nevoie de temperaturi scăzute pentru a înflori. Dintre plantele perene lemnoase putem cita pe *Teucrium scorodonia*, pentru care nevoia de vernalizare este absolută şi crizantemele perene de grădină (*Chrysanthemum hortorum*) la care nevoia de vernalizare poate fi puternică sau slabă în funcţie de varietate.

În procesul de vernalizare intervin procese metabolice. Îmbibarea seminţelor cu apă determină o reactivare a respiraţiei. Prezenţa oxigenului este indispensabilă, ca şi cea a glucidelor din cariopse. Un embrion izolat poate fi vernalizat dacă i se furnizează în mod artificial glucide.

Starea de vernalizare odată câştigată se poate pierde, în unele cazuri având loc o devernalizare. Astfel, supunerea plantelor la temperaturi în jur de 35°C imediat după terminarea tratamentului cu temperaturi joase, timp de 5-8 zile reprezintă un procedeu foarte eficace de devernalizare.

Dacă însă se lasă seminţele vernalizate un timp în atmosferă normală şi la temperatura de 20°C înainte de a fi supuse la temperaturi ridicate, devernalizarea devine imposibilă ca şi cum starea de vernalizare la început labilă devine apoi foarte stabilă.

Influenţa luminii asupra dezvoltării plantelor

Fotoperiodicitatea zilnică cu variaţiile sale anuale provoacă asupra plantelor reacţii al căror ansamblu constituie fotoperiodismul.El are o mare importanţă pentru înflorire, dar influenţează şi creşterea vegetativă.

Plantele, în funcţie de exigenţele lor faţă de lumină, pot fi clasificate în felul următor:

a) Plante afotice, care-şi formează primordiile florale la întuneric.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

b) Plante indiferente, la care înflorirea are loc ori care ar fi fotoperioada, cu condiţia totuşi ca ea să fie destul de mare pentru a permite o fotosinteză suficientă pentru producerea substanţelor organice necesare; această valoare minimă a fotoperioadei constituie minimul trofic.

c) Plante de zile scurte sau nictiperiodice, carre nu pot înflori decât dacă hemeroperioada este mai mică decât o oarecare valoare numită perioadă critică; nictiperioada trebuie să aibă o valoare mai mare decât perioada critică complementară.

d) Plante de zi lungă sau hemeroperiodice, la care euperioada este superioară perioadei critice.

Aplicarea unui tratament fotoperiodic convenabil declanşează procesul de înflorire care se va desfăşura fără a mai fi nevoie de o menţinere a tratamentului. În acest caz se poate spune că a avut loc fenomenul de inducţie fotoperiodică.

Numărul de cicluri de tratament după care se realizează inducţia fotoperiodică este foarte variat în funcţie de specie. Vârsta şi condiţiile externe pot modifica numărul de cicluri necesar.

Energiile necesare pentru declanşarea mecanismelor implicate în fotoperiodism sunt mici, iar iluminările corespunzătoare lor sunt de ordinul celor ale unei nopţi cu lună.

Studiile privind influenţa lungimii de undă a luminii asupra fotoinducţiei au dus la constatarea că albastru avea o mică eficacitate, în timp ce roşu era foarte eficace. Eficacitatea maximă se obţine în roşu deschis cu lungimea de undă între 560-640 nm, iar acest efect poate fi anulat printr-o expunere de câteva minute în roşu închis.

Acest antagonism între roşu deschis şi roşu închis a condus la descoperirea fotoreceptorului responsabil de aceste efecte - fitocromul.

Stimulul fotoperiodic este recepţionat de frunzele adulte. Se consideră că există un transportor al stimulului printr-un mecanism hormonal.

Lumina induce formarea unui compus care stimulează înflorirea la plantele de zi lungă şi o inhibă la cele de zi scurtă. În timpul nopţii se sintetizează un compus inhibitor pentru plantele de zi lungă şi stimulator pentru plantele de zi scurtă.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Influenţa luminii asupra unor aspecte ale dezvoltării fără raport cu fotosinteza pune problema fotoreceptorilor responsabili.

Unul dintre ei, fitocromul, se pare că intervine în majoritate cazurilor.

H.A. Bortwick, S.B. Hendricks şi M.W. Porker au constatat încă din 1946 efectul opus asupra înfloririi lui *Xanthium pensylvanicum* al radiaţiilor roşu-deschis şi roşu-închis. Lungimile de undă eficace pentru împiedicarea înfloririi se situează în jurul valorii de 660 nm, iar cele eficace pentru provocarea înfloririi în jurul valorii de 730 nm.

Ei au reluat în 1952 experienţele lui Flint şi Mc.Alister (1935-1937) privind influenţa luminii asupra germinării seminţelor de salată, găsind că şi pentru germinare spectrul de acţiune este comparabil celui observat pentru înflorire.Bortwick şi Hendricks au tras concluzia că este vorba de acelaşi sistem fotoreceptor pentru ambele fenomene.

Inducţia produsă de roşu-deschis (660 nm) poate fi anulată printr-o expunere în roşu-închis (730 nm), cu condiţia ca între cele două expuneri să nu se fi scurs un timp prea îndelungat (cam 20 de ore în condiţii de temperaturi medii), altfel scoaterea seminţelor din starea de repaus este definitivă.

Fitocromul ar exista în două forme, una activă, ce se formează sub influenţa luminii roşu-deschis (P.f.r.) şi alta inactivă ce ia naştere sub influenţa luminii roşu-închis (P.r.).

El este o cromoproteină, ce este denaturată de căldură, acizi şi baze, şi este sensibilă la enzimele proteolitice.

Spectrele de absorbţie ale fitocromului sunt foarte apropiate de cele ale biliproteinelor cu un maxim în albastru, în jur de 400 nm şi un altul în roşu (660 sau 730 nm după forma lui).

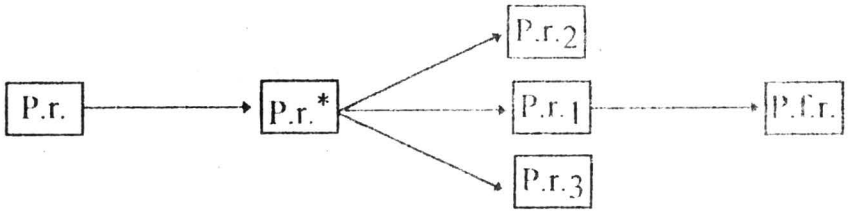
Cromoforul lui (gruparea prostetică) este un compus tetrapirolic cu lanţ deschis, iar culoarea sa este albastru-verzui (P.r.) sau verde-deschis (P.f.r.).

Faptul că germinarea seminţelor fotosensibile este stimulată de lumina roşie-deschisă demonstrează că această lumină induce formarea lui P.f.r., care este forma activă a fitocromului.

Transformarea lui P.r. în P.f.r. cere 0,25 secunde pentru conversia a 50% din molecule. Studiul precis al evoluţiei spectrelor arată că transformarea se realizează în etape după schema:

BIBLIOTECA

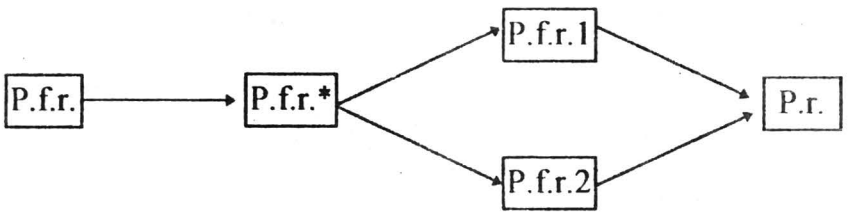
https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro



(P.r.* = forma excitată a pigmentului)

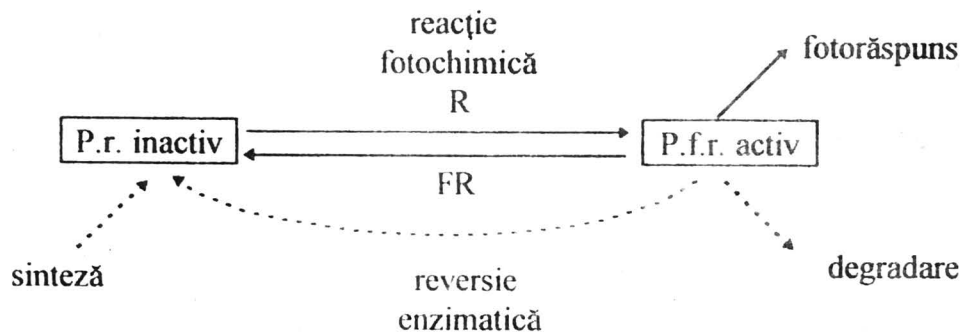
Energia necesară conversiei este neînsemnată, ceea ce explică de ce iluminări slabe sunt suficiente pentru declanşarea proceselor fotobiologice. Ea este cuprinsă între 1 şi 100 $J.m^{-2}$.

Fitocromul activ poate reveni la forma inactivă printr-o fotoreversie (roşu-închis). Nici această reacţie nu este directă, fără îndoială şi poate urma mai multe căi:



În sfârşit, ca toate proteinele, fitocromul este supus unui "turn-over" cu o degradare enzimatică, favorizată probabil de o iluminare prelungită şi o reînoire prin sinteză (după modalităţile de sinteză ale biliproteinelor).

În final putem rezuma aceste transformări în felul următor:



Schema generală de funcţionare a fitocromului

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Diverse experienţe au arătat că:

a) Există posibilitatea ca la întuneric să aibă loc o conversie chimică P.r.-> P.f.r. ceea ce ar explica de ce unele seminţe (Ex. *Amaranthus caudatus*), ce pot germina la întuneric, au totuşi germinaţia inhibată în lumină roşu-închis.

b) P.f.r. este termolabil, ceea ce explică de ce majoritatea seminţelor nu germinează la o temperatură mai mare de $30^{o}C$ (P.f.r. fiind distrus), dar pot germina la întuneric, la o temperatură sub $10^{o}C$ (existând destul P.f.r. preformat).

Conversia lui P.r. în P.f.r. (şi invers) are loc şi sub influenţa luminii albastre. P.r. prezintă un maximum de absorbţie către 370 nm, iar P.f.r. către 400 nm. Eficacitatea acestor radiaţii este însă foarte slabă.

Lungimea de undă de 370 nm este de 100 de ori mai puţin eficace decât lungimea de undă de 660 nm pentru conversie, iar lungimea de undă de 400 nm. de 25 de ori mai puţin eficace decât lungimea de undă de 730 nm pentru reversie.

Germinarea seminţelor cu fotosensibilitate pozitivă este fenomenul tipic controlat de fitocrom. Transformarea lui P.r. în P.f.r. provoacă scoaterea seminţelor din starea de repaus. Aceasta cere o energie foarte mică şi puţină apă.

Pentru seminţele cu sensibilitate negativă (inhibarea germinaţiei de către lumină) ar exista, ca şi în cazul seminţelor pretinse a fi indiferente, destul P.f.r. pentru ca ele să germineze la întuneric (Rollin şi colab. 1970), iar lumina roşu-deschis ar provoca atunci o formare excesivă de P.f.r., ceea ce ar induce o stare de repaus secundară.

Reacţia fotoperiodică de înflorire apare de asemenea ca fiind comandată de fitocrom. Pentru plantele de zi scurtă, o iluminare - fulger cu roşu, care întrerupe nictiperioada, inhibă înflorirea. Deci P.f.r. este în acest caz inhibitorul. Dar iniţierea florală nu este posibilă decât dacă nictiperioada este precedată de o hemeroperioadă (cu roşu), ceea ce confirmă că fotoperiodismul este o rezultantă a alternanţei de lumină şi întuneric şi că o oarecare cantitate de P.f.r. este indispensabilă la sfârşitul hemeroperioadei. Efectiv în acest moment o iradiere cu roşu-închis (care transformă P.f.r. în P.r.) inhibă înflorirea.

Astfel, sensibilitatea plantei faţă de P.f.r. se schimbă între zi şi noapte. Existenţa unui astfel de ritm biologic intern al sensibilităţii faţă de P.f.r. a fost dovedită direct de către

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

şcoala lui Bortwick (1935), care a arătat pe *Chenopodium rubrum* (plantă de zi scurtă) că o iluminare nocturnă cu lumină roşu-deschis (producătoare de P.f.r.) este atât inhibitoare, cât şi stimulatoare a înfloririi, după momentul ei de aplicare, mai devreme sau mai târziu, în timpul nictiperioadei.

La plantele de zi lungă se observă efecte sensibil simetrice: P.f.r. are un efect pozitiv noaptea, cu excepţia aplicării lui după un timp prea lung de obscuritate şi ziua, cu excepţia unei hemeroperioade prelungite prea mult.

Numeroase procese de creştere sunt dependente de fitocrom: inhibarea de către lumină a mezocotilului embrionilor de graminee, a hipocotilelor de muştar şi a internodiilor plantulelor tinere; stimularea creşterii cotiledoanelor şi a frunzelor tinere de dicotiledonate. La plantulele a căror alungire este fotosensibilă se constată că pe măsură ce planta îmbătrâneşte, fotosensibilitatea de tip fitocrom scade în favoarea unei sensibilităţi de tip flavoproteinic.

Cea mai mare parte a mişcărilor organelor sau organitelor sub influenţa luminii sunt dirijate de fitocrom: fotonastiile, ca cele ce duc la replierea în timpul nopţii a frunzelor sau foliolelor de leguminoase, schimbarea de permeabilitate, care provoacă scăderea turgescenţei pulvinulelor motoare şi coborârea peţiolurilor sunt induse de P.f.r.; rotaţia cloroplastelor algelor care au tendinţa, atunci când lumina este slabă, de a se aşeza perpendicular pe razele luminoase.

Fitocromul este un pigment larg răspândit: în mugurii în creştere, în zona subapicală, zonele meristematice şi organele de rezervă.

Multiplele intervenţii ale fitocromului amintesc pe cele ale auxinei, deşi mecanismele de acţiune sunt probabil foarte diferite şi nu există relaţii între ele. Dar, ca şi pentru auxină, s-a ajuns la întrevederea unei acţiuni la nivelul acizilor nucleici, care ar explica efectele sale asupra sintezelor şi a uneia la nivelul permeabilităţii celulare, care ar explica, de exemplu, rolul lui în fotonastii.

O dovadă directă a prezenţei fitocromului în nucleu a fost furnizată de Galston (1968), care a găsit în secţiunile de nucleu de plantule etiolate de ovăz iradiate cu roşu-deschis sau roşu-închis, variaţiile spectrale caracteristice fitocromului.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Fitocromul a fost de asemenea semnalat, cu argumente mai puţin directe, în mitocondrii, cloroplaste şi chiar în citoplasmă.

Deţinem încă puţine informaţii asupra modului de acţiune al fitocromului în sintezele enzimatice. Actinomycina, de exemplu, care este un inhibitor al sintezei $A.R.N._m$, inhibă formarea antocianilor la lumină şi câteva alte procese controlate de fitocrom (Mohr,1966), ceea ce este compatibil cu ideea că fitocromul ar acţiona la nivelul transcripţiei informaţiei conţinută în A.D.N. la A.R.N. Lucrările şcolii lui Mohr, în special cele cu cotiledoane de muştar, au arătat într-adevăr că lumina roşie-deschisă mărea conţinutul de A.R.N., obţinându-se o reversie în roşu-închis. Dar toate acestea nu sunt decât prezumţii că la acest nivel s-ar situa efectul primar al fitocromului.

Prezenţa fitocromului în plasmalemă a fost stabilită de mai mulţi cercetători, printre care şi de Haupt (1969) în experienţe cu alga filamentoasă *Mugeottia*, supusă iluminării cu radiaţii roşu-deschis şi roşu-închis, de slabă intensitate.

Ansamblul acestor observaţii sugerează că fitocromul este localizat pe plasmalemă şi că sub forma sa P.f.r. el ar exercita o repulsie asupra moleculelor cloroplastului, ceea ce ar antrena fie deformarea lui dacă fascicolul acţionează pe o singură faţă a celulei, fie o rotaţie a lui dacă fascicolul traversează celula, creind atunci un cuplu de repulsie. Forma P.r. ar crea dimpotrivă o forţă (sau un cuplu) de atracţie.

Moleculele fitocromului sunt orientate pe plasmalemă şi dotate cu dichroism (putere de absorbţie a luminii în funcţie de planul de polarizare al ei).

În experienţele cu *Mugeottia*, lumina roşu-deschis polarizată nu este eficace (deci captată de P.r.) decât dacă planul de polarizare este perpendicular pe axa celulei, ceea ce dovedeşte că dichroismul se inversează de la forma P.r. la forma P.f.r.

O altă ipoteză a fost la un moment dat emisă în special pentru a explica rolul fitocromului în înflorire şi anume aceea că el ar acţiona prin intermediul giberelinelor sau a altor hormoni. Această ipoteză, care nu are dovezi experimentale, este astăzi puţin susţinută.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

EVIDENȚIEREA ROLULUI LUMINII ASUPRA DEZVOLTĂRII PLANTELOR

La unele plante, chiar dintre cele cu vernalizare obligatorie, trecerea de la faza de creştere vegetativă la faza de reproducere, marcată de formarea florilor, este condiţionată şi de parcurgerea, în funcţie de particularităţile de specie, a unui anumit număr de zile cu o anumită durată a perioadei de lumină, deci a unui anumit fotoperiodism.

Materiale

- trei vase de vegetaţie;
- câte o specie din următoarele plante: salată, muştar sau grâu de primăvară; crizanteme, soia sau mei; porumb sau floarea-soarelui;
- ladă confecţionată din lemn (bine încheiată ca să nu lase să pătrundă lumina în interiorul ei) cu înălţimea de 80 cm şi cu o lungime şi lăţime suficiente ca să încapă sub ea trei vase de vegetaţie.

Mod de lucru

Pentru evidenţierea rolului luminii în declanşarea înfloririi, se cultivă, primăvara, în câte trei vase de vegetaţie, câte o specie din următoarele plante:

1) în lotul 1 - salată, muştar sau grâu de primăvară;
2) în lotul 2 - crizanteme, soia sau mei;
3) în lotul 3- porumb sau floarea-soarelui.

După răsărirea plantelor, se ţine câte un vas de vegetaţie din fiecare lot în următoarele condiţii:

a) 9 ore de lumină totală;
b) 12 ore la lumină;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

c) 16 ore la lumină în fiecare zi.

După ce stau la lumină numărul de ore stabilit, plantele se trec la întuneric. Pentru aceasta acoperim vasele respective cu o ladă confecționată din lemn (bine încheiată ca să nu lase să pătrundă lumina în interiorul ei) cu înălțimea de 80 cm și cu o lungime și lățime suficiente ca să încapă sub ea trei vase de vegetație.

În tot acest interval de timp se menține umiditatea solului la 60% din capacitatea maximă pentru apă, prin adăugarea zilnică de apă.

Făcând observații periodice asupra plantelor, se va putea constata că:

1) plantele din lotul 1 vor înflori și se vor dezvolta normal numai în condiții de zi lungă. Cele ținute în condiții de zi scurtă nu înfloresc, sau înfloresc cu întârziere și slab;

2) plantele din lotul 2 înfloresc normal în condiții de zi scurtă. iar în zilele lungi nu înfloresc, sau înflorirea lor este întârziată;

3) plantele din lotul 3 înfloresc la fel de bine și în același timp atât în condiții de zi lungă, cât și în condiții de zile scurte.

În decursul experienței se pot face diferite observații: măsurarea înălțimii plantelor, a suprafeței limbului, iar după terminarea experienței se poate determina și greutatea plantelor din fiecare lot, greutatea boabelor etc.

Experimentul demonstrează că după cerințele lor față de lungimea fotoperioadei, adică a perioadei de lumină a zilei, unele plante sunt de zi lungă, altele de zi scurtă, iar altele sunt indiferente față de lungimea perioadei de lumină a zilei.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

INFLUENŢA LUMINII ASUPRA DEZVOLTĂRII PLANTULELOR

Materiale

- nouă seminţe de grâu sau porumb şi nouă seminţe de fasole;
- şase vase (cu diametrul de aproximativ 10 cm) umplute cu pământ;
- riglă;
- etichete pentru vase;
- cameră întunecoasă;
- cameră cu intensitate luminoasă redusă.

Mod de lucru

Se umplu şase vase cu pământ. Se pun în trei vase câte trei seminţe de grâu sau porumb şi în alte trei vase câte trei seminţe de fasole. Seminţele trebuie să fie plantate la o adâncime de aproximativ 2 cm şi udate corespunzător. Pe fiecare vas se pune câte o etichetă cu numele speciei. Pentru fiecare specie se expune câte un vas în următoarele condiţii de creştere:

1) condiţii normale de seră sau o cameră de creştere ce furnizează o intensitate de cel puţin 20 000 lx pentru 12 ore sau mai mult pe zi;

2) intensitate luminoasă redusă prezentă în laborator;

3) întuneric.

Toate vasele vor fi udate corespunzător.

După aproximativ două săptămâni, în funcţie de ritmul lor de dezvoltare, se compară plantele.

Se vor face observaţii asupra următoarelor aspecte:

- înălţimea plantelor de fasole de la nivelul solului la apex;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- numărul de frunze atât de la fasole, cât şi de la grâu sau porumb;
- influenţa intensităţii de lumină asupra mărimii frunzelor şi asupra dezvoltării pigmenţilor clorofilieni şi carotenoizi la fiecare specie;
- se va urmări dacă există o curbură în hipocotilele sau epicotilele plantelor de fasole.

Se scoate solul cu grijă şi, utilizând o tavă cu apă, se spală rădăcinile de pământul de pe ele. Se va urmări influenţa intensităţii de lumină asupra dezvoltării rădăcinilor pentru fiecare specie.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

INFLUENȚA LUMINII ASUPRA ALUNGIRII MEZOCOTILULUI PLANTULELOR DE CEREALE

Materiale

- două vase cu diametrul de aproximativ 10 cm, care au la bază un orificiu pentru scurgere;
- patru semințe de grâu sau porumb;
- tavă emailată;
- seră sau cameră de creștere;
- riglă.

Mod de lucru

Se iau două vase cu diametrul de aproximativ 10 cm, care au la bază un orificiu pentru scurgere. Se umple un vas cu pământ astfel încât să rămână 5 cm până la gura vasului. Se pun patru semințe de grâu sau porumb pe suprafața solului și se acoperă uniform cu pământ, astfel încât stratul, după presarea cu grijă a semințelor, să fie de 2 cm adâncime. Se umple cel de al doilea vas cu pământ, astfel încât să rămână 7,5 cm până la gura vasului. Se pun patru semințe de grâu sau porumb pe suprafața solului și se acoperă cu pământ, astfel încât adâncimea de plantare să fie de 4,5 cm. Se pun ambele vase într-o tavă emailată și se țin plantele în seră sau în camera de creștere la 25^{o}C. Udarea se face prin subirigare, din tava în care se găsesc vasele. (Această metodă de udare împiedică compactarea excesivă a solului în jurul semințelor).

După ce răsadurile plantate adânc au răsărit și au produs cel puțin o frunză, se scoate cu grijă pământul și se îndepărtează cu grijă solul de pe rădăcini sub apă. Se măsoară lungimea în milimetri a fiecărui mezocotil de la plantele aparținând ambelor tratamente

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

(distanţa de la restul de sămânţă până la baza primei frunze sau baza coleoptilului). Se notează prezenţa rădăcinilor adventive de la vârful mezocotilului.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

STABILIREA REACȚIEI LA LUMINĂ LA SOIUL DE GRÂU Lutescens 62

Materiale

- 18 ghivece;
- 72-90 kg de pământ;
- 450 de cariopse.

Mod de lucru

Se iau 18 ghivece, cu 4-5 kg de pământ de grădină fiecare, în care se seamănă câte 25 de cariopse. După răsărire se lasă în fiecare ghiveci numai 15 plantule, cu creşterea mai uniformă. De la apariția prime or frunze, plantele sunt supuse unui regim neegal de lumină, ghivecele însă se mențin la o umiditate de 60% din capacitatea maximă pentru apă.

Variantele experiențe' sunt următoarele:

a) Varianta 1 (3 ghivece): plantele sunt ținute de dimineața până seara la lumină de 16 ore, cât este lungimea zilei de vară;
b) Varianta 2 (3 ghivece): plantele sunt ținute numai 5 zile la lumina zilei de 16 ore, iar restul zilelor în lumină de 10 ore. Practic, se scot dimineața la 7 la lumină şi se duc la întuneric la orele 16-17;
c) Varianta 3 (3 ghivece): plantele sunt ținute 10 zile la lumină de 16 ore şi apoi restul zilelor la lumină de 10 ore zilnic;
d) Varianta 4 (3 ghivece): plantele sunt ținute 20 de zile la lumină de 16 ore şi apoi restul zilelor la lumină de 10 ore zilnic;
e) Varianta 5 (3 ghivece): plantele sunt ținute 30 de zile la lumină de 16 ore şi apoi restul zilelor la lumină de 10 ore zilnic;
f) Varianta 6 (3 ghivece): plantele sunt ținute 40 de zile la lumină de 16 ore şi apoi restul zilelor la lumină de 10 ore zilnic.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

La sfârşitul experienţei (după 85 zile) se constată că grâul Lutescens 62 cu care s-a lucrat nu înspică dacă este ţinut numai 5-10 zile la lumina de 16 ore, ci rămâne sub formă de tufe, cu tulpina scurtă şi cu un sistem radicular puternic dezvoltat (fig. 1). Din această cauză se recomandă semănatul timpuriu al grâului de primăvară, când zilele sunt scurte, pentru a se provoca formarea unui sistem radicular bogat, precum şi o înfrăţire abundentă, condiţii optime pentru dezvoltarea ulterioară a plantelor. În cazul când este ţinut timp de 20 de zile la lumină de câte 16 ore, dă spice sterile şi numai dacă este luminat minimum 30 de zile grâul dă spice fertile.

Experienţa arată totodată că înălţimea tulpinii este direct proporţională cu numărul de zile cu regim de iluminare prelungită.

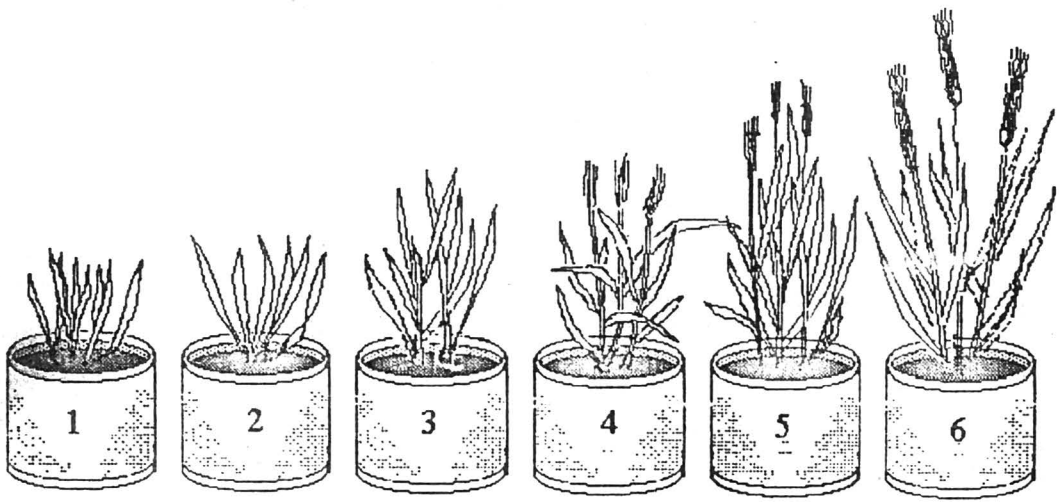


Fig.1 Aspectul plantelor de grâu Lutescens 62 supuse unui regim neegal de lumină:
1 - 5 zile lungi; 2 - 10 zile lungi; 3 -20 zile lungi; 4 - 30 zile lungi; 5 - 40 zile lungi;
6 - martor, ţinut tot timpul în zile lungi.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ROLUL LUMINII ŞI AL REGULATORILOR DE CREŞTERE ÎN GERMINAŢIA SEMINŢELOR DE SALATĂ

După coacere, seminţele de salată Grand Rapids sunt în stare latentă, ele negerminând bine chiar dacă se furnizează oxigen şi apă şi sunt menţinute la temperaturile la care are loc în mod obişnuit creşterea plantelor. Această stare de latenţă poate fi întreruptă de lumină. Pentru majoritatea seminţelor ce necesită lumină, aceasta este eficace numai după mai multe ore de imbibiţie. Fitocromul este pigmentul care absoarbe fiziologic activ lumina în aceste seminţe. De obicei acesta se găseşte sub forma care absoarbe în roşu (P.r.), cu numai mici cantităţi de P.f.r. prezent. P.f.r. este cel care, într-o oarecare măsură, provoacă procesele fiziologice şi biochimice ce conduc la germinaţie. La seminţele de salată Grand Rapids, cauza directă a germinaţiei este probabil o absorbţie crescută de apă de către celulele radiculei după formarea P.f.r. în această regiune a embrionului. Aceasta provoacă creşterea celulelor şi alungirea radiculei. Astfel, rezultatul total al tratamentului cu culoarea potrivită a luminii este creşterea abilităţii radiculei de a înfrânge forţele restrictive ale endospermului asupra creşterii.

Anumiţi regulatori de creştere afectează de asemenea germinaţia seminţelor. Unii dintre aceştia pot reduce sau elimina necesitatea de lumină, în timp ce alţii sunt inhibitori. În acest experiment se va studia eficacitatea diferitelor culori ale luminii şi a anumitor regulatori de creştere.

Materiale

- 100 de seminţe de salată Grand Rapids, sensibile la lumină pentru fiecare variantă studiată;
- 2 cutii Petri de 5 cm diametru pentru fiecare variantă, fiecare conţinând trei straturi de hârtie de filtru cu diametrul de 4 cm;
- pipete de 2 ml;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- folie de aluminiu pentru a înveli de două ori fiecare cutie Petri;
- regulatori de creştere: kinetină, acid giberelic (GA_3), acid indolilacetic,acid 2,4 diclorfenoxiacetic;
- celofan colorat;
- bandă neagră;
- foarfece;
- riglă.

Mod de lucru

Se pregătesc câte două seturi de câte 50 de seminţe de salată Grand Rapids pentru fiecare variantă. Se pun trei straturi de hârtie de filtru cu diametrul de 4 cm în fiecare dintre cele două cutii Petri cu diametrul de 5 cm. Se notează pe fiecare cutie Petri varianta de lucru. În fiecare cutie Petri se împrăştie câte 50 de seminţe pe hârtia de filtru. Variantele sunt prezentate în tabel. Pentru variantele 1 şi 2 se adaugă 2 ml apă distilată în fiecare cutie Petri. Cutiile Petri ale variantei 1 se învelesc cu două straturi de folie de aluminiu. Cutiile Petri de la variantele 1 şi 2 se lasă pe masă, unde seminţele de la varianta 2 vor fi expuse luminii provenite de la fereastră şi luminii artificiale din laborator. Temperatura trebuie să fie de 20^{o}-25^{o}C. Pentru variantele 3-6 se adaugă 2 ml din regulatorul de creştere indicat. Cutiile Petri se învelesc cu două straturi de folie de aluminiu.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tabelul nr. 1

Nr.	Varianta
1.	Întuneric - martor
2.	Lumină albă
3.	Întuneric + 30 mg/l kinetină
4.	Întuneric + 50 mg/l acid giberelic (GA_3)
5.	Întuneric + 30 mg/l acid indolilacetic
6.	Întuneric + 30 mg/l acid 2,4 - diclorfenoxiacetic
7.	Lumină albastră
8.	Lumină verde
9.	Lumină roşie
10.	Lumină roşu-îndepărtat (far - red)

Se pun apoi alături de celelalte variante, astfel încât vor fi expuse aceloraşi temperaturi.

Filtrele de lumină din celofan trebuie să fie pregătite pentru variantele 7-10. Capacele cutiilor Petri se învelesc cu două straturi de celofan albastru (varianta 7), verde (varianta 8), roşu (varianta 9) şi două straturi, unul roşu şi unul albastru pentru varianta 10. Celofanul trebuie să fie complet întins pe capace şi legat cu o bandă. Laturile de la bază ale cutiilor Petri se învelesc cu o bandă neagră pentru a exclude complet lumina albă. Se adaugă 2 ml de apă distilată în aceste cutii Petri şi se acoperă cu capacele. Se plasează alături de celelalte variante.

După o săptămână, se scot capacele şi se numără seminţele germinate în fiecare cutie Petri. Se notează valoarea medie a germinaţiei în procente.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

EVIDENŢIEREA ROLULUI TEMPERATURII ASUPRA DEZVOLTĂRII PLANTELOR

Un mare număr de plante nu pot înflori decât în cazul când dispun de posibilitatea parcurgerii unui anumit număr de zile, în funcţie de particularităţile de specie, în cursul cărora temperatura este scăzută şi cuprinsă între anumite valori caracteristice pentru specia dată. Este cazul plantelor bienale, care în primul an formează o rozetă de frunze, iar în al doilea an, după parcurgerea perioadei de frig, din timpul iernii, înfloresc şi fructifică.

Materiale

- câmp experimental;
- grâu de toamnă;
- vase de vegetaţie;
- casă de vegetaţie, seră sau laborator;
- ac spatulat sau pensă foarte fină;
- lamă de microscopie;
- lupă binocular.

Mod de lucru

Pentru evidenţierea efectului temperaturii asupra înfloririi plantelor, se seamănă toamna, pe o parcelă în câmpul experimental, grâu de toamnă, iar în primăvara următoare (devreme) se seamănă acelaşi soi în vase de vegetaţie, care se ţin în casa de vegetaţie, seră sau în laborator, pentru a feri plantele răsărite de temperatura scăzută a mediului extern.

La sfârşitul lunii aprilie sau începutul lunii mai, se îndepărtează, cu ajutorul unui ac spatulat sau a unei pense foarte fine, la câteva plantule din ambele loturi, frunzuliţele care acoperă conul lor de creştere. Aşezând conurile de creştere detaşate pe o lamă de

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

microscopie şi examinându-le la o lupă binocular, se va putea constata că la plantulele care au fost supuse acţiunii frigului, din timpul iernii, deci au fost vernalizate, conul de creştere prezintă o serie de onduleuri, care reprezintă primordiile viitoarelor spiculeţe, în timp ce conurile de creştere ale plantulelor care n-au beneficiat de parcurgerea unei perioade de frig, sunt netede (fig. 2).

Plantulele care au beneficiat în timpul iernii de acţiunea temperaturilor scăzute, sunt capabile să înflorească, după parcurgerea fotoperiodismului, în timp ce la cele nevernalizate înflorirea şi fructificarea vor fi tardive şi slabe.

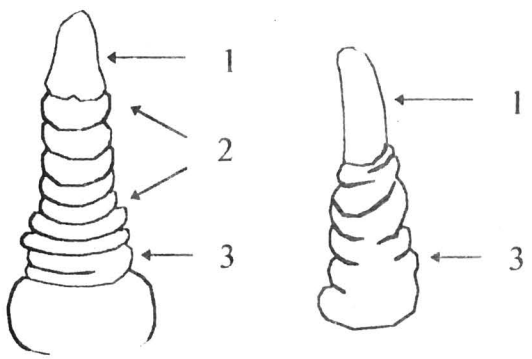


Fig. 2. Influenţa temperaturii asupra dezvoltării la grâu (după Brugovitzky citat de Boldor, 1983): a) - conul de creştere al unei plante de grâu supusă acţiunii temperaturilor scăzute din timpul iernii;b) - conul de creştere al unei plante nevernalizate; 1- conul de creştere; 2 - primordiile spiculeţelor; 3 - primordiile frunzelor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

VERNALIZAREA GRÂULUI DE TOAMNĂ

Vernalizarea începe din momentul în care embrionul se trezeşte la viaţă, deci momentul umectării lui.

Pot fi utilizate mai multe varietăţi crescute în regiunile nordice şi plantate în mod normal vara târziu sau toamna, dar răspunsurile acestora vor fi într-o oarecare măsură variate. În mai puţine cazuri nu se vor produce seminţe până când plantele nu vor beneficia de o suficient de lungă perioadă rece (răspuns calitativ). La majoritatea varietăţilor înflorirea şi producerea de seminţe are loc mai repede doar după expunerea la temperaturi scăzute (răspuns cantitativ). În acest experiment se va determina lungimea perioadei reci necesare stimulării înfloririi şi se va observa dacă varietatea utilizată răspunde calitativ sau cantitativ. Experimentele sunt uşurate de faptul că răsadurile cele mai tinere sunt uşor vernalizate.

Materiale

- seminţe de grâu sensibile la vernalizare (de toamnă) (patru seminţe pentru fiecare variantă);
- câte un vas de 15 cm diametru, ce conţine sol, pentru fiecare variantă;
- cameră de creştere sau seră cu lumină suplimentară;
- una sau mai multe cutii Petri cu hârtie de filtru;
- cameră rece sau frigider;
- etichete pentru vase.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Mod de lucru

Tabelul nr. 2

Varianta	Descriere
1.	Martor, fără vernalizare
2.	1 săptămână de vernalizare
3.	2 săptămâni de vernalizare
4.	3 săptămâni de vernalizare
5.	4 săptămâni de vernalizare
6.	5 săptămâni de vernalizare
7.	6 săptămâni de vernalizare
8.	7 săptămâni de vernalizare

Pentru varianta nr. 1 în vasul care are un diametru de aproximativ 15 cm se pun patru seminţe în sol la o adâncime de aproximativ 1 cm. Seminţele se acoperă cu pământ. Cu un al doilea grup de seminţe şi cu un vas asemănător se procedează în acelaşi fel. Se udă şi se ţin apoi plantele la o temperatură de 20^{O}-25^{O}C într-o cameră de creştere sau seră în fotoperioade lungi de 14-16 ore.

Pentru variantele 2-8 vernalizarea se realizează în felul următor: se pun 15 seminţe pe două straturi de hârtie de filtru în cutii Petri cu diametrul de 9 cm şi apoi se adaugă 5 ml de apă distilată. O asemenea cutie Petri trebuie să fie pregătită pentru fiecare variantă. Aceste cutii Petri se pun într-o cameră rece sau frigider la 2^{O}-5^{O}C. Se verifică în permanenţă umiditatea. După timpul de vernalizare indicat, se înregistrează data şi se plantează patru răsaduri în fiecare din cele două vase duplicat ce conţin pământ. Acestea se cresc în condiţii de zile lungi, la fel ca variantele martor nevernalizate.

Se notează periodic progresele făcute de plante în procesul de creştere şi, la aproximativ 6 săptămâni după plantarea în sol, se verifică cu grijă apariţia primordiilor inflorescenţelor. Se notează datele la care primele cinci dintre acestea devin vizibile în fiecare vas. Se calculează numărul mediu de zile de la plantare necesar pentru determinarea dezvoltării florale.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Se pot face măsurători în decursul perioadei de vegetație în legătură cu înălțimea plantelor, suprafața foliară etc.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A HORMONILOR TRAUMATICI PRIN TESTUL *PHASEOLUS* (după Wehnelt)

Cicatrizarea rănilor la plante este provocată de anumite substanțe active (hormoni traumatici, traumatine), care se formează în celulele lezate. Ele declanșează mitoze în celulele diferențiate.

Materiale

- păstăi de fasole, tinere, verzi și netede;
- cutii Petri;
- hârtie de filtru;
- pipete;
- suc extras prin presare din plantule mărunțite de mazăre, fasole, tomate etc;
- termostat;
- microscop cu mărire slabă sau lupă.

Mod de lucru

Pentru a dovedi existența hormonilor traumatici se pot utiliza ca material biologic păstăi de fasole, tinere, verzi și netede. Se despică în lung, separând cele două jumătăți ale păstăilor, apoi se fragmentează prin tăieturi transversale între semințe (fig. 3).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

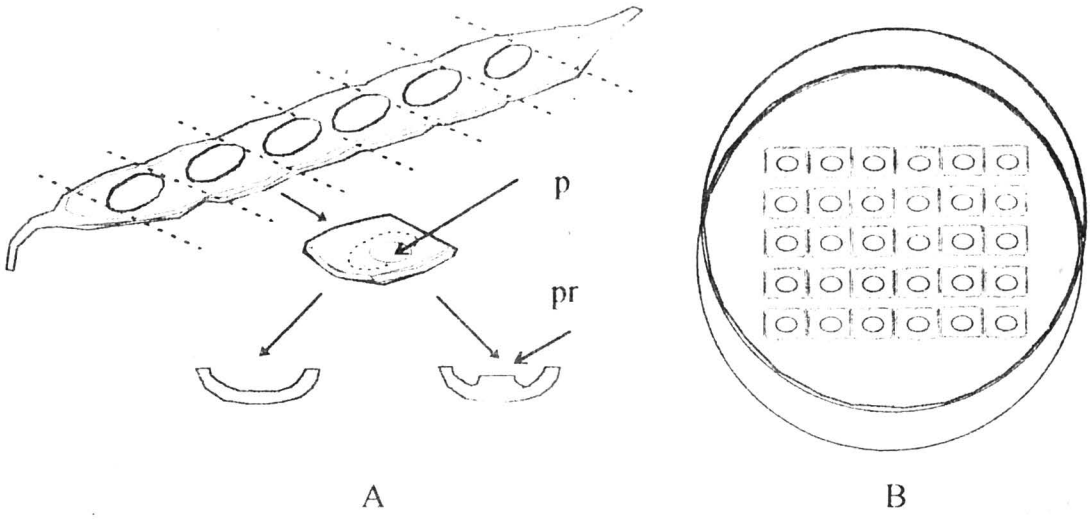


Fig. 3. Procedeul punerii în evidenţă a hormonilor traumatici prin testul Phaseolus: A - prepararea păstăii de fasole; p - picătură de extract; pr - protuberanţă; B - seriile de fragmente în cutia Petri (după Wehnelt citat de Cupcea şi colab., 1965).

Se aruncă cele două capete (vârful şi baza) şi se înlătură seminţele, aşa încât se obţin fragmente de forma unor mici farfurioare. Acestea se aşază în serie (de exemplu, câte 30 de bucăţi), cu concavitatea în sus, în cutii Petri, pe hârtie umedă de filtru, şi în fiecare scobitură se pune, cu pipeta, câte o picătură din extractul de încercat (adică din soluţia despre care dorim să ne convingem dacă conţine sau nu conţine hormoni traumatici). Ca material cu hormoni se poate utiliza sucul presat din plantule mărunţite de mazăre, fasole, tomate etc. Cutiile Petri, acoperite cu capace, se păstrează 48 de ore în termostat, la 25^{o}C. După acest timp se îndepărtează picăturile prin spălare şi se fac secţiuni transversale, care să taie regiunea pe care a stat picătura. Acestea se examinează la microscopul cu mărire slabă sau cu lupa.

Fragmentele în care a fost apă (martor) sau picături de lichid fără hormoni traumatici au suprafaţa internă concavă netedă. În cele care au venit în contact cu hormoni traumatici s-au format, sub acţiunea acestora, ţesuturi noi pe pericarp, sub forma unor mici cratere (fig. 3). Uneori aceste protuberanţe se pot observa macroscopic; mărimea lor este un indiciu asupra cantităţii de hormoni traumatici din extract.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

DETERMINAREA CONCENTRAŢIEI AUXINEI PRIN TESTUL *AVENA*

1) Efectuarea testului *Avena* (testul lui F.W.Went, simplificat de S.Kasier şi H.G.Albaum).

Proba cea mai bună şi mai sensibilă, cunoscută până acum, pentru detectarea substanţelor cu activitate de auxine şi pentru măsurarea cantităţii lor este testul biologic, în care ne servim de reacţia unui organism viu sau a părţilor sale. Criteriul folosit pentru măsurarea auxinei este alungirea celulară la coleoptilul de ovăz, *Avena* (Went). Acesta este o frunză modificată în formă de teacă ce închide frunzele primare şi vârful tulpiniţei plantulei. La plantulele crescute în întuneric şi în anumite condiţii, diviziunile celulare se continuă până ce coleoptilul atinge lungimea de 1 cm. În următoarele 4 zile, alungirea coleoptilului (până la 5-6 cm) decurge exclusiv pe socoteala întinderii celulelor.

Auxina, care stimulează această întindere, migrează din vârful coleoptilului. De aceea, înainte de a proba alungirea coleoptilului prin auxina furnizată de la exterior, trebuie să îndepărtăm vârful, sursa auxinei endogene. Consecinţa acestei amputări este sistarea alungirii celulare. Dacă se aşază pe o jumătate din suprafaţa de secţiune a coleoptilului decapitat un minuscul bloc de agar, care conţine auxină, celulele de sub el, în care se scurge auxina exogenă, se alungesc mai accentuat decât cele de pe latura opusă a coleoptilului; în consecinţă, acesta se curbează dinspre partea care se alungeşte. Testul Avena se bazează pe proporţionalitatea dintre mărimea acestei curburi şi concentraţia auxinei din blocul de agar. Cu el se pot măsura 0,00000008 mg de auxină dintr-un bloc de agar de 2×2×1 mm (=0,02 mg/l).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

a) Creşterea plantulelor de *Avena* care vor servi ca test biologic

Materiale

- 50 cariopse de ovăz "Victoria";
- vas cu apă;
- cutii Petri;
- pahare de 400 ml;
- clopote de sticlă;
- hârtie de filtru;
- cameră obscură;
- sursă de lumină roşie;
- termostat.

Mod de lucru

Majoritatea cercetătorilor folosesc ovăzul "Victoria", însă aproape toate varietăţile de ovăz pot servi pentru experienţele studenţilor, dar sunt preferabile cele care se coc târziu, căci acestea au o sensibilitate mai mare.

După înlăturarea paleelor, 50 de cariopse se supun următorului tratament:

- 2-3 ore îmbibare în apă (boabele trebuie să se scufunde imediat; cele care plutesc nu sunt bine curăţate de palee), la lumină de zi şi temperaturi scăzute, pentru ca să fie împiedicată formarea mezocotilului, primul internod;
- 24 ore germinare pe hârtie umedă de filtru; cariopsele se aşază cu latura scobită în jos, în cutii Petri şi se ţin în cameră obscură, la întuneric şi lumină roşie, la o temperatură de 22^{o}-25^{o}C (în termostat);
- 3-4 zile cultivare, tot în camera obscură, în umiditate mare şi la 22^{o}C, în modul următor: lucrând în lumină roşie, seminţele germinate se aşază în mai multe pahare de 400 ml, căptuşite cu hârtie de filtru bine umectată, care conţin câte 50 ml de apă de conductă. Se introduc boabele germinate, cu radicula în jos, între hârtia de filtru şi peretele paharului,

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

aşezându-se pe un singur rând. Boabele trebuie să fie la 1 cm mai jos de marginea superioară a hârtiei de filtru şi la 2 cm distanţă unele de altele (fig. 4).

Paharele se acoperă cu clopote de sticlă şi plantulele se cresc în continuare la întuneric, până când coleoptilele ating lungimea de 20-40 mm (3-5 zile).

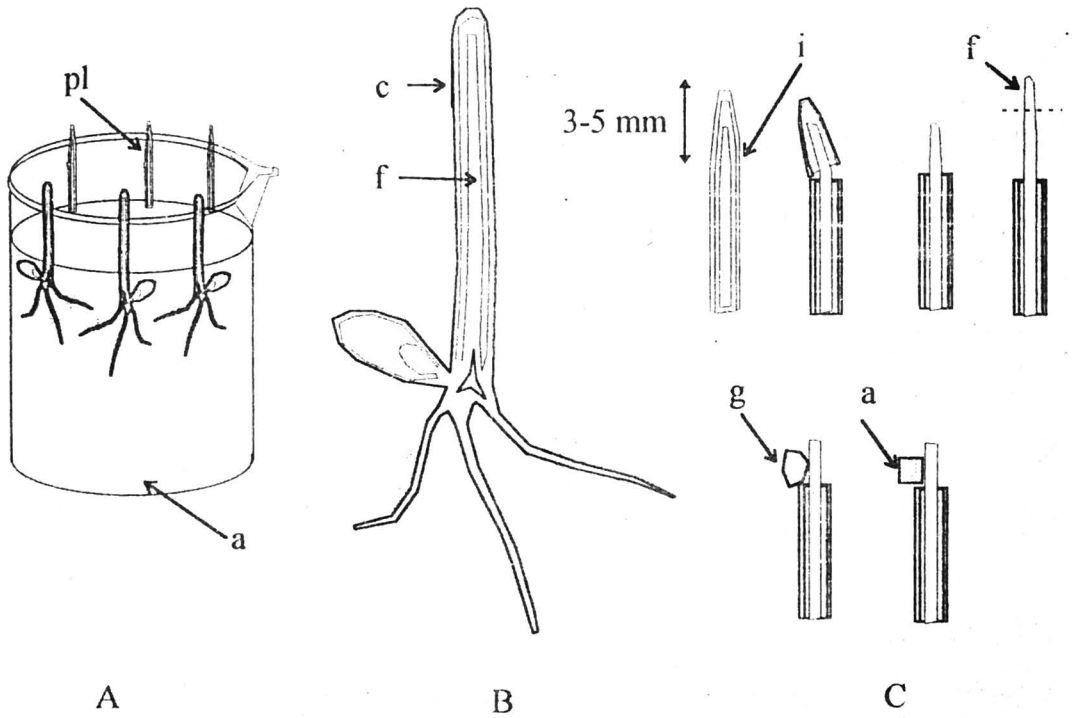


Fig. 4. Pregătirea testului Avena: A - creşterea plantulelor de ovăz: pl - plantule între peretele paharului şi hârtia de filtru; a - apă; B - plantulă de ovăz: f - frunză primară; c - coleoptil; C - prepararea coleoptilelor şi ataşarea blocului de agar: i - incizie; f - frunza primară trasă în sus; g - gelatină; a - agar (după Brauner şi colab. citat de Cupcea şi colab., 1965).

Plantulele se pot cultiva şi semănând cariopsele îmbibate în cutii mici de tablă (1×1,5×5 cm) cu pământ cernut. Acestea se ţin într-o încăpere întunecată, cu umiditatea relativă a aerului de 95%.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

b) Extragerea şi captarea auxinei din materialul vegetal

Materiale

- vârfuri de coleoptile de ovăz, muguri, secţiuni de la baza frunzelor tinere sau alte fragmente de ţesuturi vegetale;
- soluţie de agar 3%;
- soluţie de gelatină 5%;
- 2 cutii Petri;
- cameră obscură şi foarte umedă;
- bisturiu.

Mod de lucru

Extragerea şi captarea auxinei din materialul vegetal se face cu 2-3 ore înainte de începerea experienţei. În 2 cutii Petri se varsă soluţie fierbinte 3% agar, într-un strat gros de 1-1,5 mm şi se lasă să se solidifice. Se păstrează în cameră obscură şi foarte umedă (saturată cu vapori de apă), pentru ca agarul să nu se usuce, şi tot aici se captează în el auxina.

Pe suprafaţa agarului dintr-o cutie Petri (I) se pune materialul vegetal pentru care se doreşte evaluarea conţinutului în auxine: vârfuri de coleoptile de ovăz, muguri, secţiuni de la baza frunzelor tinere sau alte fragmente de ţesuturi vegetale. Acestea se aşază direct sau se lipesc cu gelatină 5% cu suprafeţele de secţiune pe agar. Se lasă în contact 2 ore. Agarul din altă cutie (II) rămâne netratat şi serveşte drept martor.

După 2 ore se îndepărtează materialul vegetal, iar placa de agar se mai lasă 1/2-1 oră în camera obscură înainte de a tăia din ea blocurile.

Agarul urmează să fie tăiat în cuburi după captarea auxinei. Se poate proceda însă şi fragmentând placa de la început şi aşezând câte un coleoptil pe fiecare cub în parte.

Dacă avem de încercat extracte, atunci amestecăm bine soluţia lichidă de 3% agar cu

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

extractul de examinat şi lăsăm apoi să se solidifice. Pentru ca substanţa de creştere să se repartizeze omogen în masa agarului, aceasta se mai lasă câteva ore după solidificare în camera saturată cu vapori, în întuneric. Ulterior se împarte în blocuri.

c) Pregătirea testului Avena

Materiale

- pahare cu câte 10-12 plantule de ovăz cu coleoptilul drept;
- lame de ras sau scalpel;
- pensă cu vârfurile îmbrăcate în plută sau cauciuc.

Mod de lucru

Când se îndepărtează materialul vegetal de pe placă, se începe operaţia de decapitare a coleoptilelor, care se desfăşoară tot în lumina fototropic inactivă (roşie).

Se aleg pahare (sau cutii cu pământ) în care sunt câte 10-12 plantule crescute complet drept şi se decapitează astfel (fig. 4): cu o lamă de ras sau cu un scalpel se face o incizie laterală în coleoptil, la 3-5 mm mai jos de vârf. Nu se taie însă adânc, pentru ca frunza primară din interiorul coleoptilului să rămână nelezată. După aceea se rupe cu grijă vârful coleoptilului, aplecându-l întâi într-o parte şi ridicându-l apoi cu pensa (vârfurile pensei se îmbracă în plută sau în cauciuc). Acum frunza primară iese din mijlocul tecii coleoptilului. Cu aceeaşi pensă o tragem puţin în sus; ea se rupe, însă fragmentul rămâne prins în tubul coleoptilului şi va servi ca suport lateral pentru blocul de agar. Vârful frunzişoarei se retează. Coleoptilele astfel preparate se lasă ½ de oră în repaus, după care se elimină exemplarele curbate. Pe cele rămase perfect drepte se aplică blocurile de agar.

Pentru a obţine plante-test mai sensibile, care nu şi-au regenerat "vârful fiziologic", se fac două decapitări succesive, în loc de una: se lucrează în modul descris, însă incizia se face ceva mai sus, la 2-3 mm sub vârf. După 2 ore de la prima decapitare, se efectuează o

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

nouă secţionare, prin care se îndepărtează încă un disc de 1-2 mm. După 10-15 minute se poate aplica agarul.

d) Tăierea şi aplicarea blocurilor de agar

Materiale

- două plăci de agar (I cu auxină şi II netratată);
- gelatină 5-15%;
- o bucată de plută în care s-au înfipt solid mai multe lame de ras, la distanţe egale de 2 mm una de alta;
- coleoptile decapitate;
- bisturiu;
- ecran;
- sursă de lumină roşie.

Mod de lucru

Din cele două plăci de agar (I cu auxină şi II netratată) se taie blocuri egale, de 2×2×1 mm, folosind o bucată de plută în care s-au înfipt solid mai multe lame de ras, la distanţe egale de 2 mm una de alta. La jumătate din coleoptilele decapitate dintr-un pahar se aplică agar tratat, la restul testelor agar netratat. Blocurile se lipesc pe suprafaţa de secţiune a coleoptilelor, unilateral, cu o picătură de gelatină (5-15%). Picătura de gelatină se poate aplica pe latura frunzei (fig. 4).

Blocurile de agar se lasă 1/2-2 ore. Se observă diferenţele de curbură provocate de blocurile de agar la coleoptilele din cele două serii. Se poate proiecta umbra coleoptilelor pe un ecran, în lumină roşie.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

2) Aplicarea testului *Avena* pentru demonstrarea dependenței unghiului de curbură de concentrația auxinei din blocul de agar

Materiale

- blocuri de agar ce conțin diferite concentrații de auxină;
- blocuri de agar de 2×2×1 mm;
- soluții de acid β-indolilacetic, în concentrații cuprinse între 0,01 și 0,00001 N;
- plante test (câte 10 pentru fiecare concentrație);
- hârtie milimetrică.

Mod de lucru

Se efectuează testul *Avena* cu blocuri de agar care conțin concentrații diverse de auxină. Pentru valoarea medie se folosește blocul de 2×2×1 mm, pe care a stat un vârf de coleoptil timp de 2 ore. Pentru concentrații mai mari ne servim de blocuri dinainte tăiate, pe care s-au ținut, aceeași durată de timp, un număr de 2, 3, respectiv 4 vârfuri de coleoptile. Concentrațiile mai mici le obținem pornind de la blocuri de agar pe care a stat câte un singur coleoptil, prin diluarea la 1/2, 1/4, 1/8 etc cu agar 3%. Pentru fiecare concentrație facem încercarea cu cel puțin 10 plante - test și stabilim valoarea medie a unghiurilor de curbură. Reprezentăm grafic pe hârtie milimetrică valoarea unghiurilor de curbură în dependență de numărul vârfurilor de coleoptile care au stat pe agar.

Se constată că mărimea unghiului de curbură crește proporțional cu concentrația auxinei numai în anumite limite și că auxinele în concentrații mari inhibă creșterea (provoacă curburi în sens invers), în loc să o accelereze.

Pentru a putea determina cantitativ, prin comparație, cantitățile de substanțe de creștere extrase din diverse organe vegetale, trebuie să se construiască mai întâi o curbă - test (grafic în care este redat raportul dintre concentrațiile de auxină și valoarea unghiului de curbură al coleoptilului *Avena*). În acest scop se experimentează cu o serie de concentrații cunoscute de substanță de creștere, din comerț. Se folosește acid β-

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

indolilacetic, în concentraţii cuprinse între 0,01 şi 0,00001 normal. (Soluţie 0,01 n: se cântăresc 0,1751 g de substanţă. Deoarece se dizolvă greu, se recomandă ca substanţa cântărită să se pună în apă distilată cu o zi înainte de utilizare. Pentru a accelera dizolvarea, se încălzeşte, fără a depăşi temperatura de 40^{o}C. După dizolvare, soluţia se aduce la volumul de 100 ml într-un balon cotat. Celelalte concentraţii se obţin prin diluarea acestei soluţii.

Pentru concentraţii mari este de preferat sarea de K sau de Na a acestui acid, deoarece sunt mai solubile decât acidul. Pentru sarea de K se cântăresc 0,2131 g, iar pentru sarea de Na 0,1970 g de substanţă, care se aduc la un volum de 100 ml în balon cotat. În lipsa acestor substanţe se dizolvă 0,1751 g de acid β-indolilacetic într-o soluţie diluată de KOH, respectiv NaOH, şi după aceea se neutralizează cu acid acetic în prezenţa fenolftaleinei).

3) Testul *Avena* cu segmente de coleoptil (Bonner din Machlis)

Materiale

- plantule drepte de *Avena* (crescute după procedeul descris la punctul 1);
- sursă de lumină roşie;
- bloc de parafină sau de plută;
- tăietor special confecţionat din 2 lame de ras fixate ferm într-un mâner de plută sau metalic, la distanţa de 10 mm una de alta;
- 4 cutii Petri;
- soluţie de acid β-indolilacetic 100 mg/l;
- soluţie zaharoză 2%;
- soluţie glucoză 1%;
- lupă;
- riglă şi hârtie milimetrică;
- pipete.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Mod de lucru

O variantă mai simplă a testului *Avena* constă în scufundarea unor segmente cilindrice egale de coleoptil, fără vârf (suprimarea sursei de auxină endogenă!), în soluţiile substanţelor active şi aprecierea efectului ace stora prin sporul în lungime al segmentelor.

Se folosesc exemplare drepte de plantule de *Avena*, crescute după procedeul descris anterior. Lucrând în lumină roşie şi repede, se aşază mai multe plantule paralel, unele lângă altele, pe un bloc de parafină sau de plută, astfel încât vârfurile lor să fie aşezate pe aceiaşi linie. Se fac apoi la toate coleoptilele deodată două tăieturi simultane, prin care se retează din fiecare 2-3 mm de la vârf şi se separă câte un segment lung de 10 mm, sub prima secţiune. În acest scop ne servim de un tăietor special, confecţionat din 2 lame de ras, pe care le-am fixat bine într-un mâner de plută sau într-un suport metalic, la distanţa exactă de 10 mm una de alta (fig. 5).

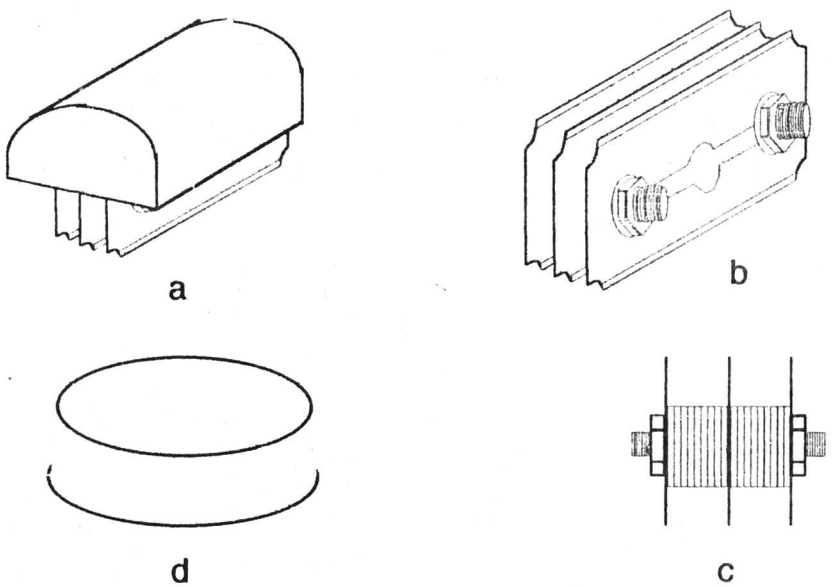


Fig. 5. Dispozitive pentru tăiat segmente de coleoptil: a - lame de ras fixate în plută; b şi c - lame fixate în suport metalic; d - suport de plută (după Brauner şi colab. citat de Cupcea şi colab., 1965).

Din fiecare coleoptil folosim un singur segment. Se pun imediat câte 10 astfel de segmente egale în fiecare din cele 4 cutii Petri, dinainte pregătite, care conţin soluţii de acid β-indolilacetic în concentraţiile descrescânde de:

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

I	II	III	IV
10	1,0	0,1	0,01 miligrame la litru.

Soluţiile se prepară plecând de la o soluţie iniţială de 100 mg/l, care se obţine astfel: se dizolvă 100 mg de acid β-indolilacetic în 1-2 ml de alcool etilic absolut şi i se adaugă aproximativ 900 ml de apă. Pentru ca să se evapore alcoolul se încălzeşte uşor (fără a depăşi 40^{o}C), iar în final se completează cu apă la 1 l.

În fiecare cutie Petri se pun câte 18 ml de soluţie proaspătă de zaharoză 2%. La I se adaugă 2 ml de soluţie iniţială de acid β-indolilacetic şi se agită; rezultă astfel concentraţia de 10 mg/l. Pentru a obţine soluţia următoare, de 10 ori mai diluată, după ce s-a omogenizat, se scot cu o pipetă curată 2 ml din soluţia I şi se pun în vasul II. Se omogenizează din nou, apoi se trec 2 ml de soluţie din II în III, şi prin acelaşi procedeu din III în IV.

După ce s-au scufundat în fiecare cutie câte 10 segmente de coleoptile, se păstrează la întuneric şi la temperatură de 25^{o}C, timp de 48 de ore. La urmă se măsoară din nou lungimea secţiunilor (cu o riglă milimetrică, cu ajutorul unei lupe) şi se calculează valoarea medie a lungimii pentru fiecare variantă. Datele se consemnează într-un tabel (tabelul 3):

Tabelul nr. 3.

Testul Avena cu segmente de coleoptil

Concentraţia acidului β-indolilacetic [mg/l]	Lungimea medie a segmentelor [mm]	Sporul mediu în lungime [mm]
I 10	...	...
II 1,0	...	...
III 0,1	...	...
IV 0,01	...	...

Se exprimă grafic valorile aflate, pe hârtie milimetrică, notându-se pe abscisă concentraţiile substanţei de creştere (logaritmul concentraţiei), crescând spre dreapta, iar pe ordonată sporul mediu al lungimii, în milimetri, crescând de jos în sus.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Experienţa se poate efectua şi în următoarea variantă: coleoptilele se decapitează cu 2 ore înainte de segmentare. Segmentele se fac mai scurte decât în procedeul descris: de 3 mm lungime, şi se taie câte 2 bucăţi din fiecare coleoptil. Se lucrează cu 2 serii:

a) 20 de segmente, care vor servi ca martor, se păstrează în soluţie 1% glucoză şi

b) 20 de bucăţi în soluţie 1% glucoză, care conţine 10^{-3}, 10^{-8}% acid β-indolilacetic. După ce au stat 24 de ore la întuneric, se face măsurarea lungimii. Aceasta nu se execută la fiecare segment în parte, ci se stabileşte lungimea totală a celor 20 de segmente aşezate cap la cap, în cazul fiecărei serii. Se reprezintă grafic rezultatele, redând într-o curbă procentul sporului de creştere în funcţie de concentraţia auxinei, raportat la martor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

DETERMINAREA CONCENTRAŢIEI AUXINEI PRIN TESTUL *PISUM*

a) Varianta cu tulpini etiolate de *Pisum* a testului cu segmente de coleoptil (Meyer-Anderson Swanson)

Materiale

- plantule de mazăre;
- lădiţe cu nisip;
- cameră obscură;
- cutii Petri;
- soluţie de acid β-indolilacetic 100 mg/l;
- soluţie zaharoză 2%;
- riglă milimetrică;
- hârtie milimetrică;
- bisturiu.

Mod de lucru

Se cresc plantule de mazăre, în lădiţe cu nisip, la întuneric, şi când tulpinile au ajuns de 20 cm, se taie din ele câte 1-2 segmente, lungi de 5 mm, din porţiunea dreaptă, cea mai apropiată de vârf. Se scufundă câte 5 segmente în fiecare din cutiile Petri, în care se află seria de concentraţii de acid β-indolilacetic cu conţinut de zaharoză, preparate după procedeul descris la experienţa "Determinarea concentraţiei auxinei prin testul *Avena*" (3) , precum şi într-o cutie de control cu apă distilată plus zaharoză, dar fără adaos de auxină. După ce au stat 24 de ore în camera obscură, se măsoară lungimea fiecărui segment, apoi se exprimă grafic sporul lungimii în funcţie de concentraţia substanţei de creştere.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

b) Testul despicăturilor de mazăre "Split pea" (Went)

Materiale

- plantule de mazăre Alaska;
- cutii Petri;
- serii de concentraţii de acid β-indolilacetic cuprinse între 10^{-3} şi 10^{-8}%;
- lamă de ras;
- bisturiu.

Mod de lucru

Se lucrează cu plantule de mazăre Alaska, crescute timp de o săptămână la întuneric. Se prepară 100 de bucăţi de segmente despicate din tulpini de mazăre astfel: se retează vârful tulpinii plantulei la 5 mm sub mugurele terminal. Capătul secţionat se despică în lung, pe o distanţă de 3 cm, cu ajutorul unei lame de ras, apoi se taie jos, secţionându-l transversal, la distanţă de 1 cm sub despicătură. Segmentele despicate se ţin în apă 1 oră, în care timp se pregătesc şi se repartizează în cutii Petri soluţiile de substanţe de creştere: serii de concentraţii de acid β-indolilacetic, de exemplu cuprinse între 10^{-3} şi 10^{-8} % (modul de preparare este descris la experienţa: "Determinarea concentraţiei auxinei prin testul Avena" (3). În fiecare soluţie, precum şi într-o cutie de control cu apă, se pun 10-15 segmente de tulpini despicate de mazăre şi se păstrează 6-24 de ore la întuneric, după care se compară curburile survenite. La segmentele din apă (fără substanţe de creştere), cele două vârfuri ale despicăturilor se curbează în afară (se îndepărtează, fig. 6). Dimpotrivă, în prezenţa auxinelor apar curburi spre interior (vârfurile se apropie) şi acestea sunt cu atât mai accentuate cu cât este mai mare concentraţia substanţei de creştere.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

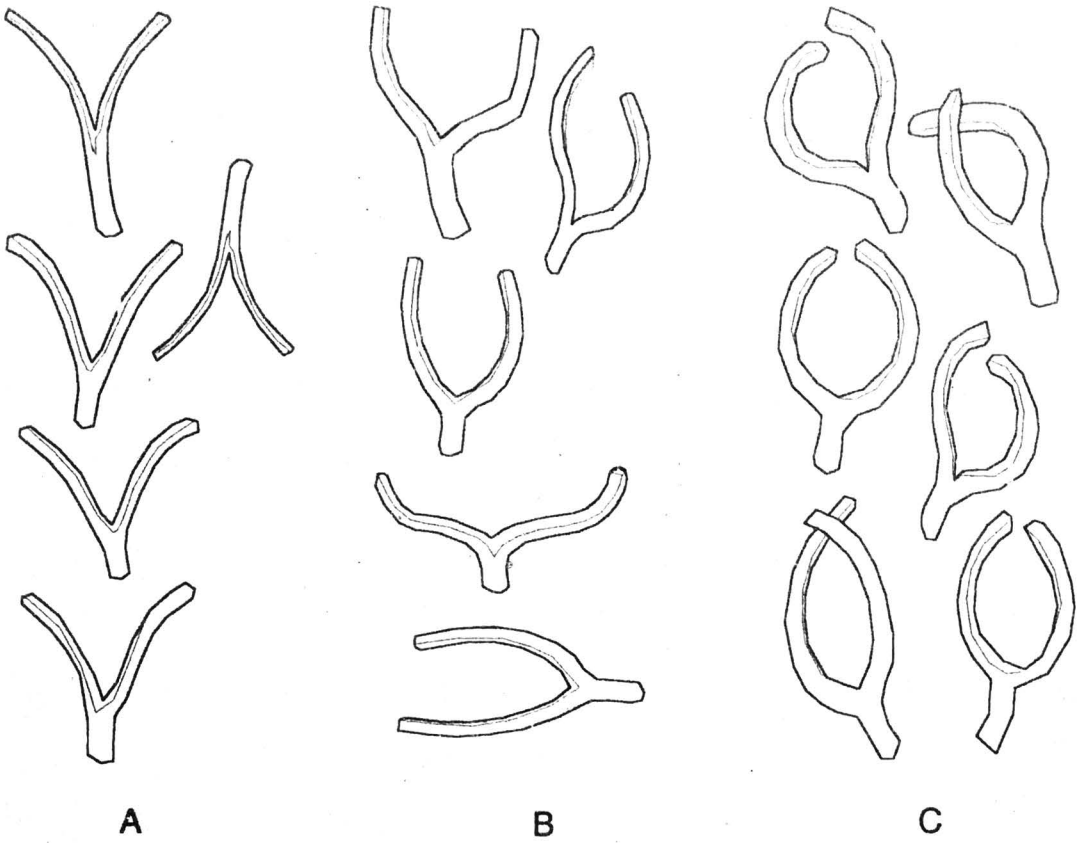


Fig. 6. Testul despicăturilor de mazăre pentru determinarea concentrației auxinei: A - martor în apă; B - în concentrație mică; C - în concentrație mare de substanțe de creștere (după Brauner și colab. citat de Cupcea și colab., 1965).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

EFECTELE FITOCROMULUI ASUPRA MIŞCĂRILOR NOCTURNE DE ÎNCHIDERE A FOLIOLELOR SECUNDARE DE LA FRUNZELE DE *ALBIZZIA JULIBRISSIN*

Frunzele multor specii prezintă orientări diferite în timpul nopţii faţă de cele din timpul zilei. Aceste diferenţe privind poziţiile frunzelor sunt foarte evidente la anumite specii care au frunze penat compuse sau dublu penat compuse. Una dintre aceste specii care prezintă acest din urmă tip de frunze este arborele de mătase, *Albizzia julibrissin*. Alte specii sunt *Albizzia lophantha*, *Leucaena glauca*, *Poinciana gilliesi*, *Calliandra inequilatera* şi *Mimosa pudica*, mimoza. Fiecare rahis de la *Albizzia* sprijină mai multe ramificaţii şi fiecare ramificaţie conţine mai multe perechi de foliole secundare. În mod normal, noaptea foliolele secundare individuale se reorientează, astfel încât vârfurile lor opuse sunt mult mai apropiate. Schimbările de poziţie sunt datorate modificărilor de turgescenţă din diferitele celule ale pulvinulei prezente la joncţiunea raheolei cu fiecare foliolă secundară. Când foliolele secundare sunt deschise în timpul zilei, celulele ventrale ale pulvinulei sunt umflate, în timp ce celulele dorsale sunt comprimate. Când are loc închiderea, celulele dorsale se umflă şi celulele ventrale devin mai comprimate. Modificările de presiune în aceste celule sunt rapide (au loc în câteva minute) şi nu implică creşterea în sens permanent.

Dovezi importante susţin ideea că modificările de presiune din celulele pulvinulelor se datorează schimbărilor privind cantitatea de ioni, în special de potasiu. Astfel, se crede că umflarea celulelor ventrale s-ar datora acumulării de către acestea a ionilor de potasiu; aceasta determină un potenţial osmotic negativ şi are drept rezultat o absorbţie crescută de apă, un potenţial de presiune crescut şi deschiderea foliolelor secundare. Comprimarea celulelor dorsale în timpul deschiderii este precedată sau însoţită de pierderea de potasiu, conducând la un potenţial osmotic mai puţin negativ şi la pierderea de apă. Aceste modificări ce privesc potasiul au loc invers în timpul închiderii foliolelor secundare.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Mecanismul biochimic al acestor modificări ionice nu este încă înțeles. Un important factor de mediu ce le controlează este lumina. O reacție de lumină de înaltă energie ce prezintă vârfurile spectrelor de acțiune în albastru și roșu-îndepărtat pare să provoace deschiderea foliolelor secundare și să mențină condițiile de deschidere din timpul zilei. Pigmentul care absoarbe la aceste lungimi de undă nu a fost identificat. Pe de altă parte, închiderea este puternic afectată de o fotoreacție diferită, una ce implică fitocromul. Dacă plantele sunt plasate la întuneric, ritmul de închidere depinde de forma sub care se găsește fitocromul (P.r. sau P.f.r.). Întrucât forma P.f.r. predomină în timpul zilei, influența conversiei fitocromului asupra închiderii poate fi observată numai prin expunerea plantelor la lumină roșie sau roșu-îndepărtat chiar înaintea plasării lor la întuneric. Din anumite motive inexplicabile, fitocromul este cel mai influent asupra ritmului de închidere dacă plantele sunt plasate la întuneric numai câteva ore după ce lumina a provocat deschiderea foliolelor secundare; după mai multe ore de lumină, indiferent dacă acest pigment este prezent sub formă P.r. sau P.f.r., el are un efect minim asupra ritmului de închidere.

În cadrul acestei lucrări se va urmări influența luminii roșii și a celei de tip roșu-îndepărtat asupra mișcărilor foliolelor secundare de la *A. julibrissin*. Se cunoaște faptul că efectele acestor lungimi de undă asupra conversiilor fitocromului provoacă mișcările menționate ale potasiului, dar nu se știe cum este realizat acest lucru. Conversia fitocromului poate provoca răspunsuri fiziologice foarte rapide. Viteza acestor răspunsuri indică faptul că o cale fundamentală în care acționează fitocromul este reprezentată de schimbarea permeabilității membranei, nu prin activarea sau dezactivarea genelor, răspunsurile necesitând probabil mai mult timp.

Materiale

- două plante de *Albizzia julibrissin* în vârstă de 3 sau 4 luni;
- cameră de creștere sau lumină suplimentară în casa de vegetație (seră) pentru a extinde lungimea zilei în timp ce sunt crescute plantele;
- 2 cutii Petri de 5 cm diametru și un marker;
- pipetă de 2 ml;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- foarfece;
- riglă;
- sursă de lumină roşie şi roşu-îndepărtat;
- cameră întunecoasă cu lumină verde de intensitate slabă.

Mod de lucru

Se folosesc plante de *Albizzia*. Pentru creşterea acestora, cu 3 sau 4 luni înainte de utilizare, se introduc seminţele în sol fertil, în vase de plastic. În cazul unei fertilizări neadecvate cu azot se poate ajunge adesea la apariţia unei colorații roşietice. Plantele trebuie ţinute în fotoperioade de 16 ore pentru a împiedica repausul. Dacă experimentele trebui să fie realizate dimineaţa este convenabil ca plantele să fie crescute continuu în casa de vegetaţie sau seră. Dacă experimentele trebuie să fie executate după amiaza, ele trebuie plasate cu 4 zile înainte într-o cameră de creştere şi menţinute în fotoperioade de 16 ore. Fiecare fotoperioadă trebuie să înceapă cu o oră, o oră şi jumătate înainte de utilizarea în experiment pentru că efectele fitocromului sunt mult mai uşor de demonstrat devreme în perioada de lumină. Plantele se ţin în lumina adecvată a casei de vegetaţie sau a camerei de creştere până vor fi prelevate perechile de foliole secundare.

Pe două cutii Petri cu diametrul de 5 cm se notează foliola de ordinul I ("*pinna*") utilizată, poziţia perechilor de foliole secundare ("*pinnulae*") studiate şi tratamentul privind lumina (lumină roşie sau roşu-îndepărtat). De exemplu, prima cutie poate fi notată A4,5R, indicând faptul că va conţine perechile de foliole secundare nr. 4 şi 5, tăiate de la foliola primară A (fig. 7) şi care vor fi expuse la lumină roşie. A doua cutie poate fi notată A'4, 5FR, indicând faptul că va conţine foliolele secundare nr. 4 şi 5 tăiate de la foliola primară A' şi vor fi expuse la lumină din domeniul roşu-îndepărtat.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

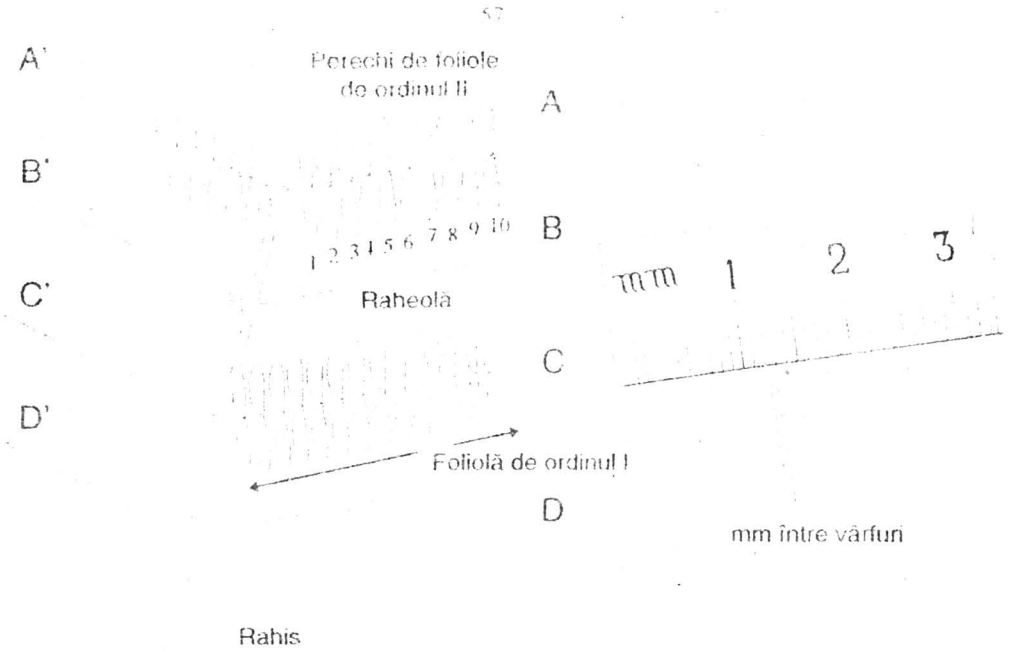


Fig. 7. Diagrama unei frunze de Albizzia julibrissin, cu indicarea metodei de alegere a unor perechi uniforme de foliole secundare (stânga) și măsurarea distanței dintre vârfurile lor (dreapta) (după Ross, 1974).

Se pun câte 2 ml de apă în fiecare cutie Petri, unde vor pluti perechile de foliole secundare ce au fost detașate în prealabil. Se reteză raheola bazal și distal la fiecare pereche de foliole secundare repartizate. Tăierea se realizează cu ajutorul unui foarfece, iar vârful foliolei primare se ține cu o pensetă în timp ce se realizează acest lucru. Se pun două perechi de foliole secundare tăiate de la aceeași foliolă primară într-o cutie, iar în a doua cutie cele două de la foliola primară corespunzătoare. Se măsoară și se notează distanța (în milimetri) dintre vârfurile foliolelor secundare în cadrul fiecărei perechi de foliole secundare (fig. 7). Cutiile Petri acoperite se duc cât de repede posibil într-o cameră întunecoasă la sursa de lumină roșie și la cea din roșu-îndepărtat. Un aranjament corespunzător de cutie dublă ce conține un filtru roșu sau roșu-îndepărtat este prezentat în fig. 8. Se poate realiza un sistem mai simplu, reprezentat de o cutie de carton peste care este plasat filtrul corespunzător roșu sau roșu-îndepărtat. Pentru furnizarea luminii roșii pot fi folosite fie lumina solară, fie becuri fluorescente, fie incandescente. Totuși, lumina fluorescentă nu furnizează o energie apreciabilă în regiunea roșu-îndepărtat, astfel încât trebuie să fie utilizate ca sursă de roșu-îndepărtat lămpile incandescente sau lumina solară.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Dacă sunt utilizate becuri incandescente, căldura emisă trebuie să fie filtrată printr-un strat de apă de cel puţin 2,5 cm ţinută într-un vas paralelipipedic aşezat lângă filtrul de lumină. Foliolele secundare se expun timp de 5 minute la lumină roşie sau roşu-îndepărtat, şi imediat se reaşează capacul cutiei peste filtru pentru a menţine întunericul.

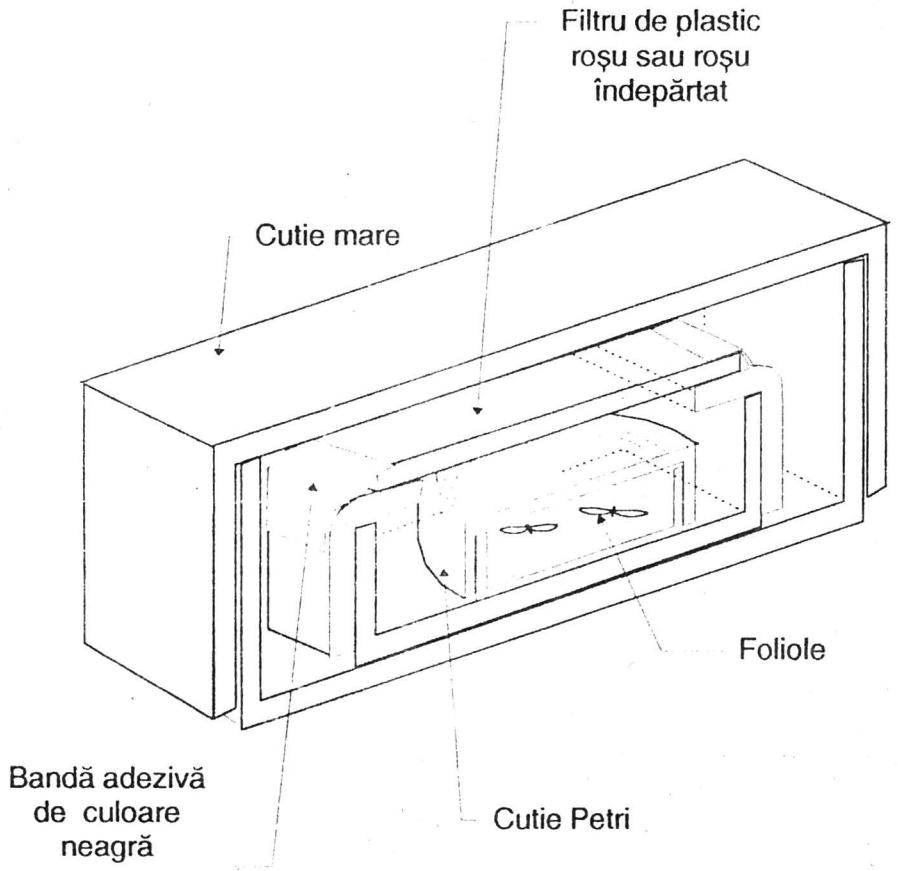


Fig. 8. Sistemul de cutii duble (secţiune longitudinală prezentată în perspectivă) pentru menţinerea perechilor de foliole secundare la întuneric după expunerea la lumină din domeniul roşu sau roşu-îndepărtat (după Koukkari, citat de Ross, 1974).

Toate măsurătorile ulterioare ale distanţelor dintre vârfurile foliolelor secundare trebuie să se facă în lúmină verde de intensitate slabă (de exemplu, un bec fluorescent acoperit cu două straturi de celofan verde sau o lanternă acoperită cu două straturi de celofan, unul verde şi unul albastru).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

După 30 de minute de întuneric se măsoară din nou distanța (în milimetri) dintre vârfurile foliolelor secundare pentru fiecare pereche. Ulterior se fac măsurători la intervale de 15 sau 30 de minute. Măsurătorile finale pot fi făcute la lumină normală de laborator. Se va realiza un grafic în care vor fi trecute distanțele medii dintre vârfurile foliolelor secundare în funcție de timp. Se vor trasa curbe separate pentru perechile tratate cu lumină roșie și respectiv pentru cele tratate cu lumină din roșu-îndepărtat.

Majoritatea plantelor trec în starea de repaus în timpul unei părți din ciclul lor de viață. În timpul perioadei de repaus ele sunt protejate împotriva secetei și a temperaturilor extreme. Repausul este frecvent la semințele multor specii și survine de asemenea la mugurii vegetativi și floriferi de la plantele lemnoase și la tuberculii, rizomii, bulbii și stolonii altor plante perene. Fenomenul a fost studiat cel mai mult la semințe, tuberculii de cartof și la mugurii arborilor și arbuștilor.

Există mai multe tipuri diferite de latență a semințelor. Semințele a numeroase specii din cadrul unor familii, mai ales *Leguminoase*, *Malvaceae*, *Chenopodiaceae*, *Convolvulaceae* și *Solanaceae* au un înveliș extern care este inițial impermeabil pentru apă. Acestea se pot afla în stare de repaus în sol pentru un timp considerabil înainte ca învelișul seminței să fie degradat de către microorganisme sau spart de către forțe mecanice.

Un alt tip de repaus apare la anumite plante lemnoase, mai ales la pini și la mai mulți membri din familia *Rosaceae*, unde semințele trebuie să fie supuse temperaturilor scăzute, stratificate (care înseamnă în sens propriu o dispoziție în straturi suprapuse), în prezența oxigenului și umezite înainte ca starea de latență să fie întreruptă.

La unele specii embrionii sunt încă imaturi în momentul desprinderii semințelor de planta-mamă și trebuie să-și termine dezvoltarea embrionară înainte ca germinația să poată avea loc.

La alte specii se manifestă o nevoie pentru o perioadă de "post-maturare", în timpul căreia nu se pot detecta modificări morfologice la nivelul embrionilor (multe varietăți de grâu, orz și ovăz).

O ultimă categorie principală include acele semințe care necesită lumină pentru a germina. După cum au arătat studii aprofundate, în acest caz este implicat fitocromul (cu sensibilitate maximă la lumina roșie).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Învelişul seminţei (sau în unele cazuri, endospermul sau pericarpul) poate fi responsabil pentru starea de repaus, fie limitând mecanic ieşirea radiculei din sămânţă, fie interferând cu penetrarea gazelor sau a apei, fie datorită conţinutului de produşi chimici inhibitori.

Starea de repaus a seminţelor pare să fie adesea controlată hormonal. Acest control este complex, fiind implicate substanţe cu rol stimulator, dar şi inhibitori. La câteva specii citochininele sau acidul giberelic (GA_3) vor întrerupe starea de latenţă a seminţelor, în timp ce la altele nu vor face acest lucru. Etilena întrerupe starea de latenţă la câteva specii, în timp ce auxinele adăugate par să joace un mic rol direct în fenomenul de latenţă al seminţelor sau mugurilor. Acidul abscisic este probabil unul dintre compuşii ce provoacă sau cel puţin prelungesc starea de repaus a seminţelor pentru că este prezent la mai multe seminţe în stare de repaus şi inhibă germinaţia când este furnizat exogen.

Starea de repaus la plantele lemnoase este un fenomen răspândit la speciile supuse temperaturilor reci şi condiţiilor de secetă. Mugurii multor copaci şi arbuşti din zona temperată de nord trec în stare de repaus ca rezultat al zilelor scurte (nopţilor lungi) şi/sau temperaturilor reci. Din nou este implicat sistemul fitocrom în efectele lungimii zilei, întrucât întreruperea nopţii lungi cu perioade scurte de lumină roşie întârzie sau împiedică starea de latenţă, şi acest efect este anulat de o radiaţie roşu-îndepărtat ulterioară. Frunzele bine dezvoltate, mai degrabă decât mugurii, detectează lungimea relativă a zilei şi a nopţii, sugerând faptul că la nivelul lor este sintetizat un hormon şi transportat către muguri, provocând dezvoltarea solzilor mugurelui şi încetinind alungirea tulpinii. Până în prezent s-au acumulat mai multe dovezi care sugerează că acest hormon este acidul abscisic.

Întreruperea stării de latenţă a mugurelui la asemenea plante are loc de obicei numai după o lungă perioadă rece, mai ales la temperaturi superioare îngheţării sau prin creşterea treptată a lungimii zilei sau prin ambele fenomene. Întreruperea stării de repaus poate implica fie dispariţia lentă a acidului abscisic şi a altor substanţe ce inhibă creşterea, fie acumularea de gibereline ce susţin creşterea, fie ambele procese.

Starea de latenţă a mugurilor de la cartofii proaspăt dezgropaţi este un alt fenomen de interes fundamental şi cu semnificaţie practică. Se cunoaşte puţin despre factorii de mediu

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

care provoacă acest fenomen, dar hidrazida maleică şi cloro-izopropil cnilcarbamatul (cloro - IPC) sunt adesea pulverizaţi pe terenurile cu cartofi înainte ca tuberculii să fie maturi pentru a prelungi această stare de latenţă în timpul stocării ulterioare. Mult mai mult se cunoaşte despre procesele implicate în întreruperea stării de latenţă a tuberculilor. În contrast cu plantele lemnoase, condiţia de stare de latenţă dispare treptat în timpul stocării cartofilor, fie la temperaturi ridicate, fie la temperaturi scăzute. Totuşi, din nou un inhibitor (poate acidul abscisic) scade curând (brusc) în concentraţie înainte să se producă germinaţia, iar nivelul giberelinei creşte în acest timp. Ca în cazul mai multor arbori şi arbuşti, giberelinele adăugate exogen stimulează creşterea mugurilor la cartofi, în timp ce acidul abscisic întârzie creşterea mugurilor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ROLUL FITOCROMULUI ÎN GERMINAŢIA SEMINŢELOR SENSIBILE LA LUMINĂ

Mulţi cercetători au demonstrat faptul că lumina roşie este cea mai eficace culoare pentru întreruperea stării de latenţă a seminţelor ce necesită lumină. În aceste cazuri dovada faptului că fitocromul este implicat în declanşarea germinaţiei, provine din observaţia faptului că efectele luminii roşii, în urma absorbţiei de către P.r. pot fi anihilate de către lumina roşu-îndepărtat, ulterior absorbită de către P.f.r., iar cantităţile relativ mici de energie din roşu sau roşu-îndepărtat sunt necesare pentru a produce germinaţia. Seminţele trebuie să fie îmbibate cu o anumită cantitate de apă înainte ca lumina să fie eficace. Acest fapt s-ar putea datora necesităţii pentru umiditate înainte ca P.r. să poată fi convertit la P.f.r. În acest experiment vor fi studiate atât fotoreversibilitatea germinaţiei la seminţele de salată Grand Rapids, cât şi timpul sensibilităţii la lumină.

Materiale

- 50 de seminţe de salată Grand Rapids sensibile la lumină pentru fiecare variantă studiată;
- câte două cutii Petri de 5 cm diametru pentru fiecare variantă, fiecare conţinând câte trei straturi de hârtie de filtru cu diametrul de 4,25 cm;
- creion de ceară şi pipetă de 2 ml;
- folie de aluminiu pentru a înveli de două ori fiecare cutie Petri;
- cameră întunecoasă cu lumină verde de intensitate slabă;
- surse de lumină: roşu şi roşu-îndepărtat.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Mod de lucru

Se vor studia următoarele variante:

Tabelul 4

Varianta	Descriere
1.	Martor - la întuneric
2.	Lumina albă
3.	5 minute lumină roşie după 48h de îmbibare
4.	5 minute lumină roşie după 16-24h de îmbibare
5.	5 minute lumină roşie după 4-6h de îmbibare
6.	5 minute lumină roşie după 1h de îmbibare
7.	5 minute lumină roşie, apoi 10 minute lumină roşu - îndepărtat (16-24h îmbibare)
8.	10 minute lumină roşu-îndepărtat (16-24h îmbibare)
9.	10 minute lumină roşu-îndepărtat, apoi 5 minute lumină roşie (16-24h îmbibare)

Semințele variantelor nr. 3, 4, 5, 7, 8 şi 9 se plasează pe hârtii de filtru umede în cutii Petri. Pentru fiecare variantă se pregătesc câte două cutii, ce conţin câte 50 de seminţe. Acestea sunt îmbibate la întuneric.

Pentru celelalte variante se pun câte trei straturi de hârtie de filtru Whatman în cutiile Petri. Se aşează 50 de seminţe de salată Grand Rapids pe hârtie în fiecare cutie, apoi se adaugă câte 2 ml de apă distilată în fiecare. Cutiile variantelor nr. 1 şi 6 se învelesc imediat cu două straturi de folie de aluminiu. Cutiile variantei nr. 2 se lasă neînvelite şi se pun într-un loc convenabil în laborator.

Cutiile variantelor nr. 3, 4, 5, 6, 7, 8 şi 9 se pun într-o cameră întunecoasă iluminată numai de o lumină verde de intensitate slabă (de exemplu două straturi, unul verde şi unul albastru, de celofan în faţa sursei de lumină sau o lampă fluorescentă). Folia de aluminiu

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

trebuie să fie disponibilă în camera întunecoasă pentru a învelì din nou cutiile după expunerea la tratamentul corespunzător cu roşu sau roşu-îndepărtat.

Pot fi realizate diferite surse de lumină roşie şi roşu-îndepărtat. Unul dintre cele mai simple constă dintr-o cutie în care nu pătrunde lumina, cu excepţia părţii superioare, unde este plasată o foaie de plastic ce permite trecerea luminii din domeniul roşu sau roşu-îndepărtat.

După ce seminţele de la varianta nr. 6 au fost îmbibate timp de o oră, se plasează împreună cu variantele nr. 3, 4, 5 şi 7 la filtrul roşu. Celelalte variante se lasă învelite în folie pentru a împiedica expunerea la lumină roşie. Seminţele variantelor nr. 3, 4, 5, 6 şi 7 se expun timp de 5 minute la lumină roşie, apoi această lumină se stinge şi se învelesc din nou cele aparţinând variantelor nr. 3, 4, 5 şi 6 cu folie. Acestea pot fi duse înapoi în laborator şi lăsate să germineze cu martorul de la întuneric şi cu cele expuse la lumină albă.

Cutiile variantelor nr. 8 şi 9 se dezvelesc şi se plasează împreună cu varianta nr. 7 la filtrul roşu-îndepărtat. Se expun timp de 10 minute la lumină roşu-îndepărtat, se stinge lumina şi se învelesc variantele nr. 7 şi 8 cu folie de aluminiu. Se expune varianta nr. 9 timp de 5 minute la lumină roşie şi se înveleşte din nou. Toate seminţele trebuie lăsate să germineze la o temperatură cuprinsă între 20^{o} şi 25^{o}C. Germinaţia poate fi controlată după 48 de ore sau o săptămână. Se calculează media procentului de germinaţie pentru fiecare variantă în parte.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Bewley, J.D., Black, M., Physiology and biochemistry of seeds. Development, germination and growth, vol. I. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1978, p. 88-101.
2. Boldor, O., Raianu, O., Trifu, M., Fiziologia plantelor - lucrări practice, Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1983.
3. Cupcea, Emilia, Iliescu, Emilia, Boldor, O., Brugovitzky, Edit, Petrea, V. D., Popovici, N., Soare, Florica, Lucrări practice de fiziologia plantelor, Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1965.
4. Fellenberg, G., Developmental physiology, Fortschr. Bot. 44, 1982, p.205-221.
5. Heller, R., Esnault, R., Lance, C., Physiologie végétale - 2. Développement, MASSON Editeur, Paris Milan Barcelone, 1995.
6. Leopold, A.C., Kriedemann, P.E., Plant growth and development, 2nd edn. Mc Graw-Hill, New York, 1975, p. 318-319.
7. Ross, C.W., Plant Physiology Laboratory Manual - Wadsworth Publishing Company, Inc. Belmont, California, 1974.
8. Voica, C., Fiziologie vegetală - vol. II, Universitatea din Bucureşti - Facultatea de Biologie - Bucureşti, 1983.
9. Wareing, P.F., Phillips, I.D.J., Growth and differentiation in plants, 3rd edn. Pergamon, Oxford, 1981.

*** Encyclopedia of Plant Physiology - New Series - Volume 10 - Hormonal Regulation of Development II - The Functions of Hormones from the Level of the Cell to the Whole Plant - Edited by T.K.Scott - Springer - Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo, 1984, p. 186-208.

VERIFICAT 2017

VERIFICAT 2007

BIBLIOTECA CENTRALĂ BUCUREŞTI

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tiparul s-a executat sub c-da nr. 512/1998,
la Tipografia Editurii Universităţii din Bucureşti

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

BIBLIOTECA CENTRALA
UNIVERSITARA „CAROL I"

DE SPIRITU ET ANIMA

DATA RESTITUIRII		
26 NOV 2007		
22 NOV. 2008		
10 JUL. 2015		
16 IUN. 2016		

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ISBN: 973 - 575 - 299 - 9

Lei 9000

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro